







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41555626\\_0028](https://archive.org/details/IA41555626_0028)



Aus dem Institut für Chirurgische Forschung  
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel)  
an der Chirurgischen Klinik der Universität München  
(Direktor: Prof. Dr. G. Heberer)

DIE WIRKSAMKEIT STROMAFREIER HÄMOGLOBINLÖSUNG  
NACH AKUTEM BLUTVERLUST BEIM HUND

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von  
Bernhard Endrich  
aus München

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Brendel, Prof. Dr. Meßmer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Peter

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 1. 1977



Meiner Frau und meinen Eltern  
in Dankbarkeit gewidmet



# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                                                                                                                                          | Seite |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| A. EINLEITUNG                                                                                                                                                                            | 1     |
| B. METHODIK                                                                                                                                                                              | 4     |
| Versuchstiere und Versuchsvorbereitung                                                                                                                                                   | 4     |
| Methodische Vorbemerkungen zur Messung mit der<br>Platinmehrdrahtelektrode                                                                                                               | 5     |
| Versuchsablauf                                                                                                                                                                           | 6     |
| Messungen während der Versuche                                                                                                                                                           | 8     |
| Postoperative Bestimmungen bei den überlebenden<br>Versuchstieren                                                                                                                        | 10    |
| Herstellung und Analyse der Hämoglobinlösungen                                                                                                                                           | 10    |
| Berechnungen                                                                                                                                                                             | 11    |
| C. ERGEBNISSE                                                                                                                                                                            | 13    |
| I. I n v i t r o Analyse der stromafreien<br>Hämoglobinlösungen                                                                                                                          | 13    |
| II. I n v i v o Untersuchungen                                                                                                                                                           | 13    |
| a) Versuchsablauf                                                                                                                                                                        | 13    |
| b) Veränderungen des Hämatokrits, der Gesamt-<br>hämoglobin- und Plasmahämoglobinkonzentration                                                                                           | 14    |
| III. Hämodynamische Veränderungen                                                                                                                                                        | 17    |
| IV. Wirkung der stromafreien Hämoglobinlösungen auf<br>die Sauerstoffversorgung der Versuchstiere                                                                                        | 22    |
| V. Verhalten des Säure-Basen-Status                                                                                                                                                      | 31    |
| VI. Veränderungen der Natrium- und Kaliumkonzentra-<br>tion im Plasma, der Gesamtbilirubin-, Kreatinin-<br>und Harnstoffkonzentration sowie des kolloidosmo-<br>tischen Drucks im Plasma | 31    |
| VII. Pathologische Veränderungen                                                                                                                                                         | 33    |

## D. DISKUSSION

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I. Stromafreie Hämoglobinlösung - ein ideales Blutersatzmittel?                                             | 38 |
| a) Therapeutische Bedeutung und Herstellung von stromafreien Hämoglobinlösungen                             | 38 |
| b) Bedeutung und Einfluß der Erythrozytenmembran bei Herstellung der Lösungen                               | 39 |
| c) Blutersatz durch Hämoglobinlösungen: Vergleichende Untersuchungen bei unterschiedlichen Versuchsmodellen | 45 |
| d) Voraussetzungen für eine kurzzeitige klinische Anwendung von stromafreien Hämoglobinlösungen             | 51 |

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| II. Hämodynamische Veränderungen im Tierversuch     | 52 |
| a) Verhalten des Herzzeitvolumens                   | 52 |
| b) Verhalten und Funktion des pulmonalen Kreislaufs | 55 |

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| III. Sauerstoffversorgung des Organismus nach Therapie mit stromafreien Hämoglobinlösungen | 56 |
| a) in vitro Charakteristika und Auswirkungen auf die Sauerstoffbindungskurve in vivo       | 56 |
| b) Verhalten der Mikrozirkulation                                                          | 59 |
| c) Sauerstofftransporteigenschaften von erythrozytärem und extraerythrozytärem Hämoglobin  | 63 |

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| IV. Auswirkungen auf die Organfunktion von Leber und Niere | 67 |
|------------------------------------------------------------|----|

|                                              |    |
|----------------------------------------------|----|
| V. Pathologisch-morphologische Veränderungen | 70 |
|----------------------------------------------|----|

|                    |    |
|--------------------|----|
| E. ZUSAMMENFASSUNG | 72 |
|--------------------|----|

|                         |    |
|-------------------------|----|
| F. LITERATURVERZEICHNIS | 73 |
|-------------------------|----|

## A. EINLEITUNG

Bei hohen Blutverlusten kann sich die Reanimationstherapie heute nicht nur auf die Wiederauffüllung des Intra- und Extravasalraums beschränken, sondern muß vor allem die extrem verschlechterte Gewebepfusion und Gewebeoxygenation beseitigen. Besonders bei der Behandlung eines länger, möglicherweise seit Stunden bestehenden Schocks muß durch die Volumensubstitution eine Verbesserung der nutritiven Gewebepfusion, d. h. Verbesserung des Sauerstoff- und Substratantransportes sowie Verbesserung des Abtransportes von Gewebsmetaboliten, erzielt werden (56, 79, 80, 81, 85, 120).

Homologes Konservenblut sollte auf Grund des hohen Hepatitisrisikos und auf Grund der lagerungsbedingten Veränderungen der Sauerstoffaffinität der Erythrozyten nur nach sorgfältiger Indikationsstellung verwendet werden (43, 74, 81). Hierbei ist besonders zu berücksichtigen, daß die schockspezifischen, hämorheologischen Komplikationen (prästatistischer Viskositätsanstieg, Fließgeschwindigkeit gegen Null, Erythrozytenaggregation (129)) durch Bluttransfusionen nicht nur nicht gebessert werden, sondern daß die in Blutkonserven enthaltenen Zellaggregate und nicht flexiblen Erythrozyten zu einer Blockierung der Mikrozirkulation vor allem in der Lunge führen können (84, 122).

Zur Primärtherapie des akuten Volumenverlustes werden heute überwiegend kolloidale Lösungen angewandt (43, 64, 74, 81, 83, 129). Dabei resultiert jedoch eine Verminderung der Hämoglobinkonzentration und damit der Sauerstoffkapazität des Blutes. Trotzdem kann innerhalb gewisser Grenzen eine ausreichende Gewebepfusion aufrechterhalten werden, da bei normovolämischer Verdünnungsanämie das Herzzeitvolumen kompensatorisch ansteigt und somit eine ausreichende Organdurchblutung und eine adäquate Sauerstofftransportkapazität aufrechterhalten werden kann (30, 64, 76, 77, 80, 81, 83, 84, 135, 136, 137).

Es ist aber offenkundig, daß hierbei die kardiale Leistungsfähigkeit besonders beim älteren Patienten einen limitierenden Faktor darstellt.

Es wäre daher ideal, neben den in der Klinik verwendeten V o l u -  
m e n ersatzmittel über B l u t ersatzmittel zu verfügen, welche  
volumenwirksam u n d zum Sauerstofftransport befähigt sind. Ein  
solches Blutersatzmittel sollte darüber hinaus lange Haltbarkeit  
und weitgehend konstante Sauerstofftransporteigenschaften besitzen.  
Es sollte in der Lage sein, die hämodynamischen Störungen der Mi-  
krozirkulation im Schock zu beseitigen und eine homogene Kapillar-  
durchblutung wieder herzustellen. Dies setzt eine niedrige Eigen-  
viskosität voraus. Ferner muß ein solches Blutersatzmittel frei  
von Organtoxizität, Antigeneigenschaften und Hepatitisrisiko sein  
(101, 117).

Da intraerythrozytäres Hämoglobin in der Lage ist, Sauerstoff che-  
misch zu binden, zu transportieren und ans Gewebe abzugeben, könn-  
te eine Hämoglobininlösung die Anforderungen an ein Blutersatzmittel  
erfüllen. Zudem wird Hämoglobin über das Reticuloendotheliale Sy-  
stem und die Leber vollständig abgebaut oder, - als ungebundenes  
Hämoglobin -, über die Niere ausgeschieden (15, 68, 69).

Obwohl verschiedene Autoren bereits nachgewiesen haben, daß bei  
vollständiger Entfernung der Erythrozytenmembran keine nephro-  
toxischen Nebenerscheinungen mehr auftreten (1, 105, 106, 108, 111),  
können stromafreie Hämoglobininlösungen auf Grund ihrer kurzen intra-  
vasalen Verweildauer sowie der hohen Sauerstoffaffinität bislang  
nicht als Blutersatzmittel am Patienten zur Anwendung kommen (54,  
107, 141, 144, 146, 152).

Zudem führt der rasche transkapilläre Abstrom von Hämoglobin zur  
Ansammlung onkotisch aktiver Moleküle im Extravasalraum, die bei  
nachfolgender Infusion von Kristalloidlösungen interstitielle Öde-  
me provozieren könnten (35, 55).

Im Tierversuch sollte deshalb geprüft werden, ob stromafreie Häm-  
oglobininlösung für einen k u r z f r i s t i g e n Ersatz von  
Sauerstoffträgern in Frage kommen kann. Vor allem sollte geprüft  
werden, ob der Abstrom onkotisch aktiver Hämoglobinmoleküle aus  
dem Intravasalraum bei nachfolgender massiver Kristalloidbelastung,  
- wie sie unter klinischen Bedingungen unvermeidbar ist -, eine  
Prädisposition für interstitielle Ödeme, speziell in der Lunge, dar-  
stellt.

Weiterhin sollte in diesen Versuchen geprüft werden, inwieweit der vom Plasmahämoglobin gebundene Sauerstoff ans Gewebe abgegeben wird und in vivo zur Gesamt-O<sub>2</sub>-Versorgung beiträgt.

## B. METHODIK

Die Versuche wurden von September 1974 bis Mai 1975 im Institut für chirurgische Forschung an der chirurgischen Universitätsklinik durchgeführt.

### Versuchstiere und Versuchsvorbereitung

Als Versuchstiere dienten 14 Bastardhunde beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 7,2 - 19,8 kg, die vier bis acht Wochen vorher splenektomiert worden waren.

Nach Prämedikation mit 0,003 mg/kg KG Fentanyl und 0,02 mg/kg KG Droperidol<sup>+</sup> und 0,025 mg/kg KG Atropin<sup>++</sup> wurden die Tiere durch intravenöse Injektion von 20 - 25 mg/kg KG Pentobarbital-Natrium<sup>+++</sup> narkotisiert. Nach Fixation in Rückenlage und endotrachealer Intubation wurde unter sterilen Kautelen und Bildwandlerkontrolle über die a. carotis sinistra ein Thermistor in die Aorta ascendens und ein Polyäthylenkatheter über die v. jugularis sinistra in den rechten Vorhof geschoben. Über die v. jugularis dextra wurde ein SWANGANZ Ballonkatheter (7F) (59, 134, 147) in die a. pulmonalis eingeführt. Zur Entnahme arterieller Blutproben, zur arteriellen Druckmessung und venösen Infusion der Blutersatzmittel wurden PVC-Katheter unter sterilen Kautelen in beide vv. femorales und in die a. femoralis geschoben.

Zum Schluß der Versuchsvorbereitung wurde bei den Versuchstieren der Gruppe B der m. sartorius dexter sorgfältig freipräpariert und eine Platinmehrdrahtoberflächenelektrode nach KESSLER (60) für die Messung der lokalen Sauerstoffdrucke auf der Muskeleoberfläche aufgesetzt.

Die Tiere wurden mit 4 mg/kg KG Succinylcholin<sup>++++</sup> relaxiert und

<sup>+</sup> Thalamonal<sup>(R)</sup>, Jansen GmbH, Düsseldorf

<sup>++</sup> Atropin sulfr., Dr. Fresenius, Homburg v. d. Höhe

<sup>+++</sup> Nembutal<sup>(R)</sup>, Abbot GmbH, Ingelheim a. Rh.

<sup>++++</sup> Lysthenon<sup>(R)</sup>, Lentia GmbH, München

über eine Starling-Druckpumpe mit einem Luftsauerstoffgemisch, das 30 % Sauerstoff enthielt, künstlich beatmet, wobei der endexpiratorische  $\text{CO}_2$ -Partialdruck bei etwa 40 mmHg gehalten und mit dem Uras<sup>+</sup> kontrolliert wurde. Um eine thrombotische Verlegung der Katheter zu vermeiden, wurden jedem Versuchstier 3 mg/kg Heparin<sup>++</sup> in physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Über Stichelektroden wurde die II. Extremitätenableitung des EKG auf einem Monitor<sup>+++</sup> aufgezeichnet. Der nach der operativen Versuchsvorbereitung negative Base Excess (BE) wurde durch intravenöse Injektion von Natriumbicarbonat<sup>++++</sup> nach der Formel  $\text{BE} \times 0,3 \times \text{Körpergewicht}$  auf Normwerte korrigiert. Eine Kontrollperiode von 30 min zwischen dem Ende der Versuchsvorbereitungen und dem eigentlichen Versuchsbeginn diente zur Normalisierung der Kreislaufverhältnisse. Danach erfolgte die Messung der Ausgangswerte.

#### Methodische Vorbemerkungen zur Messung mit der Platinmehrdrahtelektrode

Die Elektrode ist so konstruiert, daß sie unter Zuhilfenahme eines kleinen Teflonhütchens ohne sonstige Halterung direkt auf dem Muskel aufgesetzt werden kann. Dabei wird das Teflonhütchen mit feuchtem Teflonfilz auf der Muskeleoberfläche fixiert. Das Gewicht der Elektrode ist so dimensioniert, daß sie keine lokale Druckischämie erzeugen kann. Sie besitzt acht Platindrähte von mehreren  $\mu$  Durchmesser, die über eine Fläche von etwa 500  $\mu$  Durchmesser unsymmetrisch verteilt sind. Von diesen acht Drähten wurden bei unseren Versuchen vier Drähte für die Messungen verwendet.

Wird eine negative Spannung an die Platinelektrode angelegt, findet ein elektrochemischer Reduktionsvorgang statt, wobei der an die Oberfläche diffundierende Sauerstoff durch Anlagerung von Elektronen zu Wasser reduziert wird. Bei dieser Reaktion wird laufend

---

<sup>+</sup> Ultrarotabsorptionsschreiber, Fa. Hartmann und Braun, Frankfurt (Main)

<sup>++</sup> Heparin Novo<sup>(R)</sup>, Novo Industrie GmbH, Mainz

<sup>+++</sup> Monitor, Zweistrahl-Sichtgerät und EKG-Verstärker, Mela GmbH, München

<sup>++++</sup> 8,4 % Natriumbicarbonat, Fa. B. Braun, Melsungen AG

Sauerstoff verbraucht und es entsteht ein Stromfluß, dessen Stärke von der Zahl der reduzierten Sauerstoffmoleküle abhängig ist. Dieser Stromfluß wird mittels KNICKAMPÈREMETER gemessen und mittels Photoschreiber <sup>+</sup> registriert.

Bei einer genügend großen Zahl von Einzelmessungen (Verschiebung der Elektrode auf der Muskeloberfläche) läßt die statistische Auswertung eine Aussage über die lokale O<sub>2</sub>-Versorgung des Muskels zu. Diese Analyse erfolgt an Hand von Histogrammen. Dabei werden die erhaltenen PO<sub>2</sub>-Werte in Gruppen von je 5 mmHg auf der Abzisse aufgetragen. Auf der Ordinate wird die Häufigkeit der Werte in den einzelnen Gruppen (in Prozent) angegeben (62).

### Versuchsablauf

Nach der Bestimmung der Kontrollwerte erfolgte aus der a. femoralis eine rasche Entblutung, bis entweder Herzstillstand eintrat oder 2/3 des Sollblutvolumens (7,6 % des Körpergewichts (125, 126, 127)) entzogen waren. Die Reanimation erfolgte unverzüglich durch äußere Herzmassage und schnellen isovolämischen Blutersatz durch gleichzeitige intravenöse Druckinfusion von Hämoglobinlösung und Dextran 60 <sup>++</sup>. Die Versuche wurden in zwei Gruppen durchgeführt:

Gruppe A: Hämoglobinlösung und Dextran 60 wurden im Verhältnis 1 : 1 infundiert.

Gruppe B: Hämoglobinlösung und Dextran 60 wurden im Verhältnis 4 : 1 infundiert.

40 bis 60 min nach Austauschende atmeten die Tiere wieder spontan und wurden im weiteren Verlauf des Versuches mit Methohexital-Natrium <sup>+++</sup> (0,5 %) in Form einer Dauertropfinfusion anästhesiert.

60 min nach Austauschende wurde der rechte Vorhofdruck durch In-

---

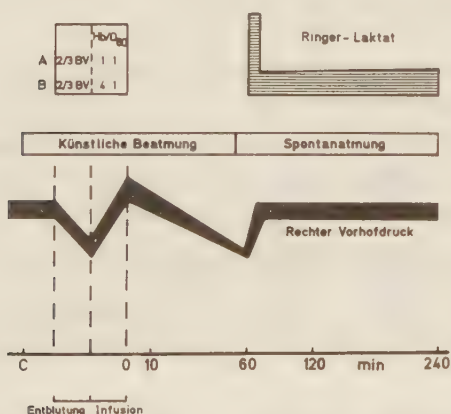
<sup>+</sup> Recording Oscillograph, Consolidated Electrodynamics Corporation, Pasadena, California, USA

<sup>++</sup> Macrodex (R), Fa. Knoll, Ludwigshafen

<sup>+++</sup> Brevimytal (R), Lilly GmbH, Gießen

fusion von Ringer-Laktat (n. Hartmann) wieder auf den Kontrollwert angehoben und durch fortlaufende Infusion auf diesem Wert konstant gehalten. Neben der Bestimmung der Ausgangswerte wurden Messungen während des Versuchs 10 min , 60 min , 120 min und 240 min nach Austausch durchgeführt.

Abb. 1 Reanimation mit stromafreier Hämoglobinlösung  
Versuchsmodell  
(Erklärung siehe Text)



Anschließend wurden die Katheter entfernt, die Wunden versorgt und die Tiere nach antibiotischer Infektionsprophylaxe (tgl. 500000 I.E. Penicillin und 0,5 g Streptomycin<sup>+</sup> i.m. bis zum fünften postoperativen Tag) in den Stall gebracht. Ansonsten erfolgte keine Behandlung der Tiere. Sie hatten freien Zugang zu Futter und Wasser. Postexperimentell wurden bei den überlebenden Tieren am ersten, dritten, fünften und siebten Tag venöses Blut entnommen, um einige der unten aufgeführten Werte weiter zu beobachten.

<sup>+</sup> Supracillin (R), Chemie Grünenthal GmbH, Stolberg im Rheinland

Die innerhalb von 14 Tagen nach dem Versuch verstorbenen Hunde wurden seziert und Gewebeproben von Lunge und Niere zur histologischen Untersuchung entnommen. <sup>+</sup>

In Gruppe B wurden die sieben Versuchstiere am zweiten, dritten, fünften, siebenten (zwei Tiere), elften und vierzehnten postoperativen Tag eingeschlüfert, um Organproben von Herz, Lunge, Leber und Niere zur histologischen Untersuchung zu gewinnen.

#### Messungen während der Versuche

1. Arterieller Mitteldruck (MAP) und rechter Vorhofdruck (RAP), (Stathamelemente)
2. Mitteldruck in der art. pulmonalis (PAP) und pulmonary capillary wedge pressure (PCWP), (SWAN-GANZ Ballonkatheter, Edward Laboratories, Santa Ana, California; Stathamelement)
3. Herzfrequenz (Herz- und Pulsfrequenz-Monitor, Mela GmbH, München)
4. Herzzeitvolumen (HZV) (Thermodilutionsprinzip, August Fischer KG, Göttingen)
5. Hämatokrit (Mikrohämatokritzentrifuge 5 min bei 5000 U/min, Heparinised Tubes von Hawley and Sons Limited, London und Mikrozentrifuge, Hettich, Tuttlingen)
6. Hämoglobinkonzentration im Vollblut und Plasma (Cyanhämitoglobinmethode, photometrisch, Photometer Eppendorf)
7. pH im zentralvenösen Blut nach Astrup (Radiometer Kopenhagen) pCO<sub>2</sub>, Base Excess und Bicarbonat nach dem Nomogramm von SIGGAARD-ANDERSEN (131)
8. arterieller und zentralvenöser pO<sub>2</sub> (polarographisch, Combiana-lysatoren Eschweiler, Kiel)

---

<sup>+</sup> Für die histologischen Untersuchungen bin ich Herrn P. D. Dr. med. K. PIEL-STICKER, Pathologisches Institut der Universität München, zu großem Dank verpflichtet.

9. arterielle und zentralvenöse Sauerstoffsättigung (Oxymeter, American Opt. comp., Hellige, Freiburg)
10. arterieller und zentralvenöser Sauerstoffgehalt im Vollblut und Plasma (Lex-O<sub>2</sub>-Con, Lexington, Instruments Company, Lexington Massachusetts, USA)

Um den Sauerstoffgehalt im Plasma zu bestimmen, wurde das Plasma anaerob vom Vollblut getrennt. Vollblut wurde in einem Röhrchen mit Paraffin überschichtet und etwa zehn Minuten zentrifugiert. Mit einer Spritze wurde dann das Plasma anaerob entnommen und in den Lex-O<sub>2</sub>-Con übergeführt (Abb. 2).

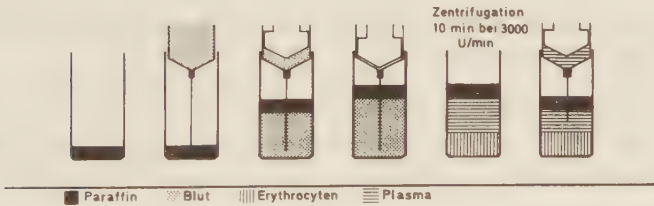


Abb. 2 Anaerobe Trennung von Erythrozyten und Plasma zur Bestimmung des O<sub>2</sub>-Gehaltes im Plasmahämoglobin

Sauerstoffkapazität im Plasma, nach Tonometrierung mit 30 % Sauerstoff (Lex-O<sub>2</sub>-Con, Lexington, Instruments Company, Lexington Massachusetts, USA)

11. P<sub>50</sub> an Hand der Sauerstoffbindungskurve unter Standardbedingungen bei pH = 7,4, 37° C (vollautomatisch mittels Dissoziations Curve Analyzer (DCA<sub>1</sub>) nach DUVELLEROY et al. (33), Radiometer, Kopenhagen)

12. 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) im Vollblut (enzymatisch mit Phosphoglyceratmutase, Sigma, St. Louis, USA, photometrisch, Zeiss Photometer, Oberkochen, Württ.)
13. Natrium- und Kaliumkonzentration im Plasma (flammenphotometrisch, Flammenphotometer, Eppendorf)
14. Kolloidosmotischer Druck (KOD) im Plasma (Membranosmometer, Fa. Knauer, Berlin)
15. Harnstoff, Kreatinin, Gesamt-Bilirubin (Biochemica Test Combination, Boehringer GmbH, Mannheim, photometrisch, Zeiss Photometer, Oberkochen, Württ.)

#### Postoperative Bestimmungen bei den überlebenden Versuchstieren

Folgende Messungen wurden während der postexperimentellen Beobachtungsperiode durchgeführt:

Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration in Vollblut und Plasma, 2,3-DPG im Vollblut, Kaliumkonzentration im Plasma, KOD im Plasma, Harnstoff, Kreatinin und Gesamtbilirubin.

#### Herstellung und Analyse der Hämoglobinlösungen

Für die Versuche standen stromafreie 6 %ige Hämoglobinlösungen zur Verfügung. Sie wurden von BONHARD (8, 9) (Biotest Serum Institut, Frankfurt (Main)) nach einer Modifikation der von RABINER et al. (105, 106) angegebenen Methode hergestellt.

Diese beiden Verfahren sind in Tabelle 9 dargestellt.

Nach Angaben des Herstellers wiesen die verwendeten Lösungen folgende Eigenschaften auf:

Tabelle 1 Zusammensetzung der stromafreien Hämoglobinlösungen

| Charge              | Hb <sub>H</sub> 740726 | Hb <sub>M</sub> <sup>+</sup> 741106 | Hb <sub>M</sub> 750129 |
|---------------------|------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| Hb (g%)             | 5,9                    | 6,2                                 | 6,0                    |
| Met-Hb (rel.%)      | 0,4                    | 0,9                                 | 0,6                    |
| Glucose (g/l)       | 29                     | 30                                  | 31                     |
| Bicarbonat (mval/l) | 30                     | 30                                  | 30                     |
| Natrium (mval/l)    | 92                     | 90                                  | 93                     |
| Kalium (mval/l)     | 0,2                    | 1,8                                 | 1,6                    |
| Chlorid (mval/l)    | 48                     | 44                                  | 45                     |

<sup>+</sup> Die mit Hb<sub>H</sub> bezeichnete Lösung ist aus Hundehämoglobin, die mit Hb<sub>M</sub> bezeichneten Lösungen wurden aus Human-Hämoglobin hergestellt.

Alle drei verwendeten Hämoglobinchargen waren steril und pyrogenfrei.

Zusätzlich wurden von uns *in vitro* bestimmt:

pH, 2,3-DPG, Sauerstoffkapazität, Natrium -und Kaliumkonzentration, KOD, sowie

Osmolarität (Gefrierpunkterniedrigung, elektrisches Halbmikroosmometer, Fa. Knauer, Berlin)

Viskosität (bei Schergeraden von  $230 \text{ sec}^{-1}$  -  $23 \text{ sec}^{-1}$ ; Micro-cone-plate Viscometer, Brookfield, New Jersey, USA).

### Berechnungen

Folgende Größen wurden berechnet:

$$1. \text{ Peripherer Gesamtwiderstand} = \frac{\text{MAP} - \text{RAP}}{\text{HZV}}$$

$$2. \text{ Pulmonaler Strömungswiderstand} = \frac{\text{PAP} - \overline{\text{PCWP}}}{\text{HZV}} \quad (\text{in Gruppe B})$$

3. arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz (AVDO<sub>2</sub>%)  
 = SO<sub>2</sub> % art. - SO<sub>2</sub> % ven.

4. Sauerstoffangebot in Vollblut, Plasma, Erythrozyten  
 =  $\frac{\text{arterieller Sauerstoffgehalt (Vol \%)} \times \text{HZV}}{100}$

5. Sauerstoffextraktion aus Vollblut, Plasma, Erythrozyten  
 =  $\frac{\text{arterio-venöse O}_2\text{-Gehaltsdifferenz} \cdot 100}{\text{art. O}_2\text{-Gehalt}}$  (%)

der physikalisch gelöste Sauerstoff wurde vom gemessenen O<sub>2</sub>-Gehalt des Plasmas jeweils subtrahiert.

$\text{O}_2\text{-Gehalt Plasma-Hämoglobin (Vol\%)} = \text{O}_2\text{-Gehalt Plasma (Vol\%)} -$   
 $\text{pO}_2 \text{ (mmHg)} \times 0,003 \text{ (Vol\%/mmHg)}$

6. Sauerstoffverbrauch aus Vollblut, Plasma, Erythrozyten  
 =  $\frac{\text{arterio-venöse O}_2\text{-Gehaltsdifferenz} \times \text{HZV}}{100}$

Für alle Daten erfolgte die Berechnung des Mittelwertes  $\pm$  mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM). Die statistische Prüfung der Ergebnisse erfolgte mittels Student-t Test.

## C. ERGEBNISSE

### I. In vitro Analyse der stromafreien Hämoglobinlösungen

Die Ergebnisse der in vitro Bestimmungen der bei unseren Versuchen verwendeten Lösungen sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Die Lösungen mit den Chargen Nr. 741106 und 750129 wiesen bei einem Hämoglobingehalt von 6,2 g% beziehungsweise 6,0 g% eine Sauerstoffkapazität von 7,7 Vol% und 8,1 Vol% auf. Daraus errechnet sich eine Sauerstoffbindungszahl von 1,24 und 1,35.

Die Hämoglobinlösungen hatten trotz eines annähernd normalen 2,3-DPG Gehaltes einen sehr niedrigen  $P_{50}$ . Die Elektrolytkonzentrationen für Natrium und Kalium lagen unterhalb, die Osmolarität oberhalb des Normbereichs für Blutserum. Der kolloidosmotische Druck war bei den in den Versuchen verwendeten Lösungen gegenüber den Normalwerten im Plasma nahezu um das Doppelte erhöht.

Die Messungen der Viskosität ergaben bei allen Schergraden eine im Vergleich zu Normalplasma nahezu identische Eigenviskosität.

### II. In vivo Untersuchungen

#### a) Versuchsablauf

Wie an Hand von Tabelle 3 zu sehen ist, wurde den Tieren im Mittel 51,5 ml/kg KG Blut entzogen, wobei die Entblutungszeit in Gruppe A 3,2 min, in Gruppe B 5,5 min betrug. Während des Blutverlustes trat in Gruppe A bei 6 von 7 Tieren, in Gruppe B bei 4 von 7 Tieren Herzstillstand ein. Bei einem Tier in Gruppe B mußte eine äußere Herzmassage zusätzlich zu der Infusionstherapie durchgeführt werden.

In Gruppe A wurden stromafreies Hämoglobin und Dextran 60 im Verhältnis 1 : 1 gleichzeitig über beide vv. femorales infundiert, während

Tabelle 2 In vitro Analyse der stromafreien Hämoglobinlösungen

| Charge              | Hb <sub>H</sub> 740726      | Hb <sub>M</sub> 741106 | Hb <sub>M</sub> 750129 |
|---------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|
| Hb                  | (g%)                        | 6,2                    | 6,0                    |
| P <sub>50</sub>     | (mmHg)                      | 12,8                   | 16,5                   |
| 2,3-DPG             | (μMol/gHb)                  | 14,8                   | 12,1                   |
| O <sub>2</sub> -Kap | (Vol%)                      | 7,7                    | 8,1                    |
| pH                  | -                           | 7,551                  | 7,550                  |
| K <sup>+</sup>      | -                           | 1,70                   | 1,50                   |
| Na <sup>+</sup>     | (mval/l)                    | 90,0                   | 88,5                   |
| Osmolarität         | (mval/l)                    | 344                    | 340                    |
| KOD                 | (mosm/l)                    | 51,2                   | 46,4                   |
| Viskosität          | (cm H <sub>2</sub> O)       | 1,10                   | 1,09                   |
|                     | (cP 230 sec <sup>-1</sup> ) | 1,09                   | 1,09                   |
|                     | ( 115 sec <sup>-1</sup> )   | 1,38                   | 1,20                   |
|                     | ( 46 sec <sup>-1</sup> )    | 1,58                   | 1,88                   |
|                     | ( 23 sec <sup>-1</sup> )    |                        |                        |

in Gruppe B im Mittel 41,4 ml/kg KG Hämoglobinlösung und 10,4 ml/kg KG Dextran 60 verabreicht wurden (Verhältnis 4 : 1).

Um den rechten Vorhofdruck über drei Stunden auf dem Kontrollwert halten zu können, mußten in Gruppe A 133,2 ml/kg KG, in Gruppe B 100 ml/kg KG Ringer-Laktat infundiert werden.

In Gruppe A überlebten 5 von 7 Tieren, in Gruppe B alle Versuchstiere langfristig, d. h. sie überlebten nach dem Versuch klinisch unauffällig sieben Tage. Die in Gruppe B vor dem siebten Tag eingeschläferten Tiere waren ebenfalls bis zu ihrem Tod klinisch völlig unauffällig. Die makropathologischen und pathologisch-histologischen Befunde werden später beschrieben.

Tabelle 3 Reanimation mit stromafreier Hämoglobinlösung  
(Mittelwerte  $\pm$  SEM; n = 7 in Gruppe A und B)

|                            | Gruppe A         | Gruppe B         |
|----------------------------|------------------|------------------|
| Entblutungsvolumen (ml/kg) | 51,3 $\pm$ 1,7   | 51,7 $\pm$ 0,8   |
| Entblutungszeit (min)      | 3,2 $\pm$ 0,6    | 5,5 $\pm$ 0,4    |
| Herzstillstand             | 6/7              | 4/7              |
| Dextran 60 (ml/kg)         | 25,6 $\pm$ 0,4   | 10,4 $\pm$ 0,2   |
| Hb-Lösung (ml/kg)          | 25,6 $\pm$ 0,4   | 41,4 $\pm$ 0,6   |
| Infusionszeit (min)        | 1,5 $\pm$ 0,8    | 5,3 $\pm$ 3,2    |
| Ringer-Laktat (ml/kg)      | 133,2 $\pm$ 38,3 | 100,7 $\pm$ 25,4 |
| Überlebensrate             | 5/7              | 7/7              |

b) Veränderungen des Hämatokrits, der Gesamthämoglobin- und Plasma-hämoglobinkonzentration

Das Verhalten des Hämatokrits, der Gesamthämoglobin- und der Plasma-hämoglobinkonzentration ist Abb. 3 zu entnehmen.

Der Hämatokrit war 10 min nach Austauschende in beiden Gruppen auf etwa 30 % des Kontrollwerts abgesunken und lag in Gruppe A im Mittel bei 11,4 %, in Gruppe B bei 13,5 %. Gegenüber diesen Werten

zeigten sich bei den folgenden Messungen über die gesamte Versuchsdauer in beiden Gruppen nur geringe Veränderungen; zwischen den zu vergleichenden Versuchsserien traten jedoch bereits 30 min nach Austauschende signifikante Abweichungen auf, die bis Versuchsende bestehen blieben. Während der postexperimentellen Beobachtungsperiode stieg der Hämatokrit wieder langsam an und erreichte am siebten Tag in Gruppe A 24,9 %, in Gruppe B 22,9 %.

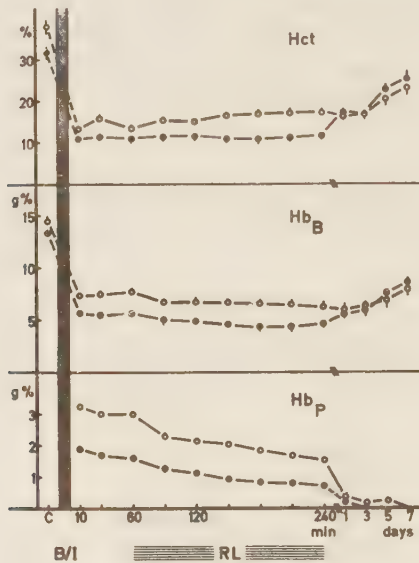


Abb. 3 Hämatokrit (Hct), Gesamthämoglobin- (Hb<sub>B</sub>) und Plasma-  
hämoglobinkonzentration (Hb<sub>P</sub>) vor und nach Blutaustausch  
(● —● Gruppe A (Hämoglobin : Dextran 60 = 1 : 1)  
○ —○ Gruppe B (Hämoglobin : Dextran 60 = 4 : 1)  
C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsphase,  
RL = Ringer-Laktat Infusion)

Der akute Blutverlust und die anschließende Substitution mit stro-  
mafreier Hämoglobinlösung und Dextran 60 hatte in Gruppe A einen  
Abfall der Gesamthämoglobinkonzentration auf 5,6 g% zur Folge, wäh-

rend in Gruppe B, - bedingt durch die höhere Konzentration des Plasmahämoglobins nach der Infusionstherapie -, die Gesamthämoglobinkonzentration nur auf 7,3 g% abgesunken war. Diese statistisch hoch signifikante Differenz bleibt über 240 min bestehen. In beiden Versuchsserien fiel die Gesamthämoglobinkonzentration im weiteren Versuchsablauf nur noch leicht ab und stieg erst während der postoperativen Überwachungsperiode wieder an.

Die Hämoglobinkonzentration im Plasma war 10 min nach Infusionsende in Gruppe A auf 1,9 g%, in Gruppe B auf 3,2 g% angestiegen. Danach zeigte sich in beiden Gruppen ein nahezu linearer Abfall der Plasmahämoglobinkonzentrationen. Innerhalb der Beobachtungsperiode von 240 min gingen etwa 1,0 - 1,1 g/kg KG Hämoglobin aus dem Intravasalraum verloren. Das infundierte Hämoglobin war dann in Gruppe A am dritten postoperativen Tag, in Gruppe B dagegen erst am siebten Tag nach Versuchsende vollständig aus dem Kreislauf eliminiert.

### III. Hämodynamische Veränderungen

Das Verhalten des arteriellen Mitteldrucks (MAP) und des rechten Vorhofdrucks (RAP) ist aus Abb. 4 zu ersehen.

Während der arteriellen Entblutung fällt der MAP auf sehr niedrige Werte (etwa 20 - 30 mmHg) ab, steigt aber nach der Infusionstherapie wieder an und hat 10 min nach Austauschende die Kontrollwerte wieder erreicht. Diese wie auch alle weiteren Werte des MAP waren in beiden Gruppen nur geringfügig und statistisch nicht signifikant von den Ausgangswerten verschieden.

Der rechte Vorhofdruck sinkt ebenfalls während der Austauschphase in beiden Versuchsserien stark ab (etwa auf 0 - 0,5 mmHg), steigt aber nach der Reanimationstherapie wieder an und beträgt 10 min nach Austauschende in Gruppe A  $4,4 \pm 1,0$  mmHg, in Gruppe B  $6,8 \pm 0,7$  mmHg ( $p < 0,001$ ). 60 min nach Abschluß der primären Reanimationstherapie war der RAP in Gruppe A auf  $2,1 \pm 0,5$  mmHg, in Gruppe B auf  $1,6 \pm 0,3$  mmHg ( $p < 0,02$  gegen K) abgefallen und lag damit in beiden Gruppen unter dem Kontrollwert. Durch Infusion von Ringer-Laktat wurde

der RAP in beiden Gruppen auf den Ausgangswert gebracht und im weiteren Verlauf des Versuchs durch Dauertropfinfusion von Ringer-Laktat konstant gehalten.

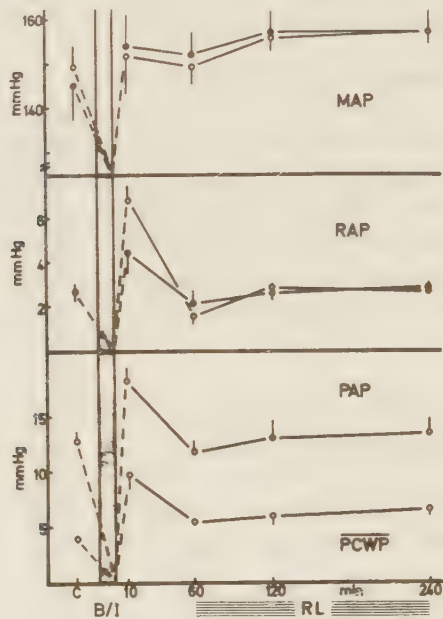


Abb. 4 Arterieller Mitteldruck (MAP), rechter Vorhofdruck (RAP), Mitteldruck in der a. pulmonalis (PAP) und Mitteldruck des pulmonary capillary wedge pressure (PCWP) vor und nach Blut-austausch

(● — ● Gruppe A (Hämoglobin : Dextran 60 = 1 : 1)

(○ — ○ Gruppe B (Hämoglobin : Dextran 60 = 4 : 1)

C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsphase,

RL = Ringer-Laktat Infusion)

Parallel zu der Erhöhung des RAP steigt sowohl der Mitteldruck in der a. pulmonalis (PAP) als auch der Mitteldruck des pulmonary

capillary wedge pressure (PCWP), - diese Werte wurden nur in Gruppe B bestimmt -, unmittelbar nach Austauschende signifikant an (jeweils  $p < 0,005$  gegen K) (Tabelle 4). Im weiteren Verlauf der Versuche bleibt der PAP konstant auf Höhe der Kontrollwerte, während der PCWP unmittelbar vor Beginn der Ringer-Laktat Infusion noch gegenüber dem Ausgangswert erhöht ist ( $p < 0,05$ ) und sich erst danach wieder auf den Kontrollwert einstellt.

Der pulmonale Strömungswiderstand (Tabelle 4) fällt in Gruppe B unmittelbar nach der Reanimationstherapie leicht, bis zum Ende der Versuche signifikant ab.

In Abb. 5 sind die Veränderungen der Herzfrequenz, des Herzzeitvolumens und des peripheren Strömungswiderstandes dargestellt.

Während der arteriellen Entblutung unmittelbar vor Beginn der Infusionstherapie mit Dextran 60 und Hämoglobin war in Gruppe A bei 6 von 7 Tieren, in Gruppe B bei 4 von 7 Tieren keine mechanische Herzaktion mehr nachweisbar. Bei einem Versuchstier in Gruppe B war zu diesem Zeitpunkt weder eine mechanische noch eine elektrische Herzaktion zu beobachten, weshalb hier zusätzlich eine äußere Herzmassage während der Infusion der Lösungen durchgeführt werden mußte (bei den Tieren, die während der Austauschphase keinen Herzstillstand zeigten, ist über das Verhalten der Herzfrequenz innerhalb dieser Versuchsperiode keine Aussage möglich).

Nach Abschluß der primären Reanimationstherapie besteht in Gruppe A noch 10 min später eine relative Bradykardie ( $p < 0,01$ ); danach erreicht die Herzfrequenz wieder ihren Ausgangswert.

In Gruppe B dagegen bleibt die Herzfrequenz nach Austauschende über die gesamte Versuchsdauer signifikant gegenüber den Ausgangswerten erniedrigt (10 min:  $p < 0,001$ ; 60 min:  $p < 0,01$ ; 120 min:  $p < 0,005$ ; 240 min:  $p < 0,01$ ). Zwischen beiden Versuchsserien ist das Verhalten der Herzfrequenz 10 min nach Austauschende noch nahezu identisch, jedoch bestehen bei den weiteren Bestimmungen signifikante Unterschiede (jeweils  $p < 0,001$ ).

Die Ergebnisse der Herzzeitvolumenmessung in beiden Gruppen sind in Tabelle 4 zusammengefaßt und in Abb. 5 graphisch dargestellt.

Tabelle 4 Änderungen von arteriellem Hämatokrit (Hct), Herzzeitvolumen (HZV), Mitteldruck in der a. pulmonalis (PAP), pulmonary capillary wedge pressure (PCWP) und pulmonalem Strömungswiderstand (R<sub>pulm.</sub>) zu verschiedenen Zeiten nach Austausch von Hämoglobinlösung und Dextran 60 gegen Vollblut (Mittelwert  $\pm$  SEM, n = 7 in Gruppe A und B)

| Gruppe A                 | Kontrollwert | Zeit nach Austauschende (min) |                            |                            |                            |
|--------------------------|--------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                          |              | 10                            | 60                         | 120                        | 240                        |
| Hct (%)                  | 33,9 ± 1,7   | 11,4 ± 1,2                    | 10,9 ± 0,9                 | 11,4 ± 1,4                 | 11,6 ± 1,1                 |
| HZV (ml/kg min)          | 186,9 ± 12,6 | 225,2 ± 32,4                  | 248,7 ± 20,9 <sup>a)</sup> | 351,4 ± 40,8 <sup>c)</sup> | 347,6 ± 44,7 <sup>c)</sup> |
| PAP (mmHg)               | ---          | ---                           | ---                        | ---                        | ---                        |
| PCWP (mmHg)              | ---          | ---                           | ---                        | ---                        | ---                        |
| R <sub>pulm.</sub> (PRU) | ---          | ---                           | ---                        | ---                        | ---                        |

| Gruppe B                 | Kontrollwert  | Zeit nach Austauschende (min) |                             |                             |                             |
|--------------------------|---------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                          |               | 10                            | 60                          | 120                         | 240                         |
| Hct (%)                  | 37,0 ± 2,0    | 13,5 ± 0,7                    | 13,7 ± 0,8                  | 15,1 ± 0,4                  | 17,0 ± 0,6                  |
| HZV (ml/kg min)          | 174,1 ± 17,5  | 216,7 ± 21,8                  | 182,0 ± 8,6                 | 244,7 ± 24,9 <sup>a)</sup>  | 201,5 ± 24,9                |
| PAP (mmHg)               | 12,8 ± 0,9    | 18,2 ± 1,2 <sup>b)</sup>      | 11,8 ± 1,1                  | 13,1 ± 1,6                  | 13,5 ± 1,4                  |
| PCWP (mmHg)              | 4,0 ± 0,4     | 9,8 ± 1,3 <sup>b)</sup>       | 5,5 ± 0,4 <sup>a)</sup>     | 6,0 ± 0,9                   | 6,6 ± 0,7                   |
| R <sub>pulm.</sub> (PRU) | 0,052 ± 0,005 | 0,040 ± 0,006                 | 0,033 ± 0,005 <sup>b)</sup> | 0,030 ± 0,003 <sup>c)</sup> | 0,035 ± 0,002 <sup>d)</sup> |

Signifikanz gegenüber dem Kontrollwert:

a) p < 0,05

b) p < 0,02

c) p < 0,005

d) p < 0,001

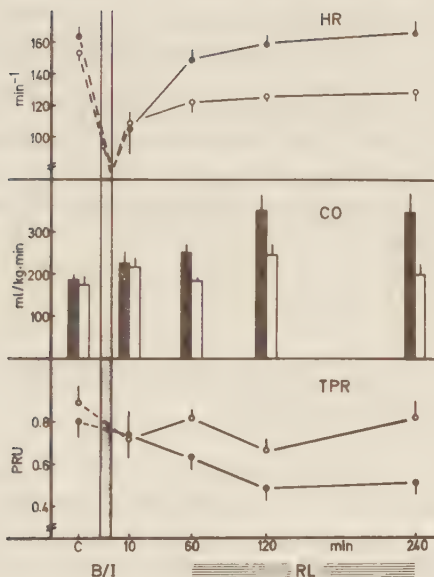


Abb. 5 Herzfrequenz (HR), Herzzeitvolumen (CO) und peripherer Gesamtwiderstand (TPR) vor und nach Blutaustausch (Gruppe A = schwarze, Gruppe B = weiße Symbole, C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsphase, RL = Ringer-Laktat Infusion)

In Gruppe A steigt das Herzzeitvolumen 10 min nach Austauschende trotz eines Hämatokrits von 11,4 % nur leicht an. Nach Einleiten der Ringer-Laktat Infusion jedoch erhöht sich das Herzzeitvolumen 120 min beziehungsweise 240 min nach Abschluß der Primärtherapie um etwa 85 % über den Ausgangswert. In Gruppe B steigt das Herzzeitvolumen 10 min nach Austauschende ebenfalls nur leicht an, fällt aber im Gegensatz zu Gruppe A während der ersten Stunde nach Blutverlust und anschließender Substitution ohne zusätzliche Weiterbehandlung geringfügig ab. Auch unter der Ringer-Laktat Infusion be-

obachteten wir bei den Messungen des Herzzeitvolumens in dieser Versuchsserie nur 120 min nach Austauschende eine signifikante Erhöhung über den Kontrollwert ( $p < 0,05$  gegen K). Somit zeigen sich im Verhalten des Herzzeitvolumens zwischen beiden Serien signifikante Unterschiede (60 min:  $p < 0,02$ ; 120 min:  $p < 0,05$ ; 240 min:  $p < 0,02$ ).

Der periphere Gesamtwiderstand dagegen fällt in Gruppe A kontinuierlich ab und ist 240 min nach Austauschende um etwa 40 % gegenüber dem Kontrollwert erniedrigt ( $p < 0,02$ ), während dieser Parameter in Gruppe B nur nach 120 min signifikant gegenüber dem Ausgangswert abgefallen ist ( $p < 0,05$ ).

#### IV. Wirkung der stromafreien Hämoglobinlösungen auf die Sauerstoffversorgung der Versuchstiere

In Tabelle 5 sind die Veränderungen des arteriellen und zentralvenösen Sauerstoffgehaltes, der arterio-venösen Sauerstoffgehaltsdifferenz im Vollblut und Plasma, der Sauerstoffkapazität im Plasma, der Plasmahämoglobinkonzentration und der Sauerstoffbindungszahl für beide Gruppen zusammengestellt.

Der arterielle und zentralvenöse Sauerstoffgehalt im Vollblut fällt nach Austauschende, bedingt durch den Blutumsatz mit 6 %iger Hämoglobinlösung und Dextran, signifikant ( $p < 0,001$ ) in beiden Gruppen ab und hält sich dann bei den folgenden Messungen nahezu konstant im Bereich dieser Werte.

Die Sauerstoffgehaltsdifferenz im Vollblut dagegen zeigt nur 120 min nach Austauschende in beiden Gruppen gegenüber den Ausgangswerten signifikante Abweichungen.

Der Sauerstoffgehalt im arteriellen Plasma steigt durch die Infusion der Hämoglobinlösungen in Gruppe A auf 2,08 Vol%, in Gruppe B auf 3,53 Vol% an, während der Sauerstoffgehalt im zentralvenösen Plasma 10 min nach Austauschende in Gruppe A 1,58 Vol%, in Gruppe B 2,81 Vol% erreicht. Beide Parameter sind in beiden Versuchsserien am Ende des Versuchs signifikant erniedrigt ( $p < 0,001$ ).

Tabelle 5 Veränderungen des arteriellen und zentralvenösen Sauerstoffgehaltes im Vollblut und Plasma, der arterio-venösen Sauerstoffgehaltsdifferenz (AVDO<sub>2</sub>) im Vollblut und Plasma, der Sauerstoffkapazität im Plasma (Kap<sub>p1</sub>), des Hämoglobingehaltes im Plasma (Hb<sub>p</sub>) und der Sauerstoffbindungszahl (Mittelwert  $\pm$  SEM, n = 7 in Gruppe A und B)

| Gruppe A                             |        | Kontrollwert | Zeit nach Austauschende (min) |                           |                           |                           |
|--------------------------------------|--------|--------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                                      |        |              | 10                            | 60                        | 120                       | 240                       |
| O <sub>2</sub> -Gehalt Vollblut art. | (Vol%) | 16,95 ± 0,59 | 6,66 ± 0,36 <sup>c)</sup>     | 6,46 ± 0,37 <sup>c)</sup> | 5,72 ± 0,49 <sup>c)</sup> | 5,69 ± 0,44 <sup>c)</sup> |
| O <sub>2</sub> -Gehalt Vollblut ven. | (Vol%) | 11,88 ± 1,02 | 2,70 ± 0,37 <sup>c)</sup>     | 2,91 ± 0,70 <sup>c)</sup> | 3,14 ± 0,70 <sup>c)</sup> | 2,32 ± 0,35 <sup>c)</sup> |
| AVDO <sub>2</sub>                    | (Vol%) | 5,07 ± 0,62  | 3,96 ± 0,26                   | 3,54 ± 0,40               | 2,58 ± 0,30 <sup>b)</sup> | 3,37 ± 0,46               |
| O <sub>2</sub> -Gehalt Plasma art.   | (Vol%) | 0,25 ± 0,02  | 2,08 ± 0,11                   | 1,68 ± 0,09               | 1,19 ± 0,10               | 0,81 ± 0,10 <sup>f)</sup> |
| O <sub>2</sub> -Gehalt Plasma ven.   | (Vol%) | 0,14 ± 0,02  | 1,58 ± 0,11                   | 1,29 ± 0,14               | 0,92 ± 0,10               | 0,58 ± 0,09 <sup>f)</sup> |
| AVDO <sub>2</sub>                    | (Vol%) | 0,11 ± 0,03  | 0,50 ± 0,10                   | 0,39 ± 0,09               | 0,27 ± 0,04               | 0,23 ± 0,06 <sup>d)</sup> |
| O <sub>2</sub> -Kap <sub>P1</sub>    | (Vol%) |              | 2,32 ± 0,11                   | 1,98 ± 0,11               |                           |                           |
| Hb <sub>P</sub>                      | (g%)   | 0,10 ± 0,03  | 1,90 ± 0,09                   | 1,54 ± 0,09               | 1,11 ± 0,11               | 0,69 ± 0,09               |
| O <sub>2</sub> -Bindungszahl         |        |              | 1,18 ± 0,05                   | 1,23 ± 0,05               |                           |                           |
|                                      |        |              |                               |                           |                           |                           |
| Gruppe B                             |        | Kontrollwert | Zeit nach Austauschende (min) |                           |                           |                           |
|                                      |        |              | 10                            | 60                        | 120                       | 240                       |
| O <sub>2</sub> -Gehalt Vollblut art. | (Vol%) | 18,59 ± 0,81 | 8,38 ± 0,41 <sup>c)</sup>     | 9,26 ± 0,45 <sup>c)</sup> | 8,16 ± 0,57 <sup>c)</sup> | 7,94 ± 0,44 <sup>c)</sup> |
| O <sub>2</sub> -Gehalt Vollblut ven. | (Vol%) | 14,60 ± 1,14 | 4,36 ± 0,43 <sup>c)</sup>     | 5,57 ± 0,60 <sup>c)</sup> | 5,91 ± 0,35 <sup>c)</sup> | 4,26 ± 0,24 <sup>c)</sup> |
| AVDO <sub>2</sub>                    | (Vol%) | 3,99 ± 0,48  | 4,02 ± 0,48                   | 3,69 ± 0,35               | 2,25 ± 0,31 <sup>a)</sup> | 3,67 ± 0,47               |
| O <sub>2</sub> -Gehalt Plasma art.   | (Vol%) | 0,29 ± 0,02  | 3,53 ± 0,17                   | 3,29 ± 0,20               | 2,44 ± 0,18               | 1,69 ± 0,13 <sup>f)</sup> |
| O <sub>2</sub> -Gehalt Plasma ven.   | (Vol%) | 0,16 ± 0,02  | 2,81 ± 0,16                   | 2,80 ± 0,19               | 2,11 ± 0,14               | 1,43 ± 0,11 <sup>f)</sup> |
| AVDO <sub>2</sub>                    | (Vol%) | 0,13 ± 0,02  | 0,73 ± 0,10                   | 0,49 ± 0,08               | 0,33 ± 0,06               | 0,26 ± 0,06 <sup>e)</sup> |
| O <sub>2</sub> -Kap <sub>P1</sub>    | (Vol%) |              | 3,71 ± 0,20                   | 3,61 ± 0,15               |                           |                           |
| Hb <sub>P</sub>                      | (g%)   | 0,15 ± 0,02  | 3,23 ± 0,12                   | 3,01 ± 0,09               | 2,14 ± 0,07               | 1,51 ± 0,05               |
| O <sub>2</sub> -Bindungszahl         |        |              | 1,18 ± 0,08                   | 1,20 ± 0,05               |                           |                           |

1. Signifikanz gegenüber dem Kontrollwert:

- a)  $p \leq 0,02$
- b)  $p \leq 0,005$
- c)  $p \leq 0,001$

2. Signifikanz gegenüber 10 min nach Austauschende:

- d)  $p \leq 0,05$
- e)  $p \leq 0,005$
- f)  $p \leq 0,001$

Ebenso ist die arteriovenöse Sauerstoffgehaltsdifferenz in beiden Gruppen am Ende der Versuche gegenüber dem 10 min nach Austauschen- de gemessenen Wert signifikant abgefallen ( $p < 0,05$ ). Die Sauer- stoffbindungszahl wurde in beiden Gruppen 10 und 60 min nach Infu- sion des Hämoglobins bestimmt und lag zwischen 1,18 und 1,23.

Wie aus Abb. 6 ersichtlich, sind die arteriellen  $pO_2$ -Werte in bei- den Gruppen während der Versuche gegenüber ihren Kontrollwerten nahezu unverändert.

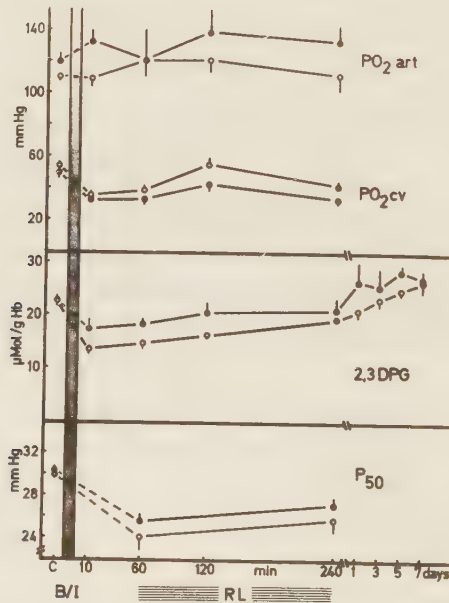


Abb. 6 Arterieller  $pO_2$  ( $PO_2 \text{ art}$ ), zentralvenöser  $pO_2$  ( $PO_2 \text{ cv}$ ), 2,3-DPG Konzentration und  $P_{50}$  im Vollblut vor und nach Blutaustausch  
 (● — ● Gruppe A, ○ — ○ Gruppe B, C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsphase, RL = Ringer-Laktat Infusion)

Der zentralvenöse  $pO_2$  dagegen fällt in Gruppe A 10 min nach Ende der primären Volumenersatztherapie auf  $31,7 \pm 1,8$  mmHg ( $p < 0,005$ ), in Gruppe B auf  $33,9 \pm 2,5$  mmHg ( $p < 0,001$ ) deutlich ab. Nach Einleiten der Ringer-Laktat Infusion steigt der zentralvenöse  $pO_2$  in beiden Serien vorübergehend wieder an, sinkt jedoch 240 min nach Austauschende in Gruppe A wieder auf  $33,8 \pm 3,9$  mmHg ( $p < 0,02$  gegen K), in Gruppe B auf  $41,2 \pm 3,1$  mmHg ( $p < 0,01$  gegen K) ab.

Die 2,3-DPG Konzentration (Abb. 6) verringert sich in Gruppe A 10 min nach Austauschende auf  $17,4 \pm 1,9$   $\mu\text{Mol/gHb}$  ( $p < 0,02$ ), in Gruppe B auf  $13,6 \pm 1,5$   $\mu\text{Mol/gHb}$  ( $p < 0,001$ ). Während die 2,3-DPG Konzentration in Gruppe A am Ende des Versuchs mit dem Ausgangswert nahezu identisch ist, ist diese in Gruppe B zum gleichen Zeitpunkt noch signifikant gegenüber dem Kontrollwert erniedrigt ( $p < 0,02$ ) und erreicht diesen erst etwa am dritten postexperimentellen Tag wieder.

Wie an Hand von Abb. 6 weiter zu erkennen ist, erhöht sich die Sauerstoffaffinität im Vollblut nach der Infusionstherapie mit 6 %iger stromafreier Hämoglobinlösung signifikant. Der  $P_{50}$  fällt in Gruppe A auf  $25,6 \pm 1,0$  mmHg ( $p < 0,005$ ), in Gruppe B auf  $24,2 \pm 1,2$  mmHg ( $p < 0,005$ ). In beiden Versuchsserien sind die  $P_{50}$ -Werte auch nach 240 min noch signifikant gegenüber den Kontrollwerten erniedrigt (Gruppe A  $p < 0,01$ , Gruppe B  $p < 0,005$ ).

In Abb. 7 sind die auf dem m. sartorius gemessenen lokalen  $O_2$ -Drucke statistisch ausgewertet und graphisch dargestellt. Diese Messungen wurden nur in Gruppe B durchgeführt.

Bei unseren Versuchen wurde unter den Kontrollmessungen ein mittlerer Gewebs- $pO_2$  von  $18,5 \pm 1,2$  mmHg gefunden.

Nach arterieller Entblutung zeigt das Histogramm folgende Verteilung:

77,2 % der Werte liegen im Bereich von 0 - 5 mmHg, 5,5 % zwischen 5 und 10 mmHg und 9 % im Bereich von 10 - 15 mmHg. Der Mittelwert beträgt  $2,9 \pm 0,6$  mmHg.

60 min nach der Infusion von Hämoglobin und Dextran 60 liegen noch immer 47 % aller  $pO_2$ -Werte unter 5 mmHg. Der Mittelwert ist auf  $13,2 \pm 1,9$  mmHg angestiegen. Nach Infusion von Ringer-Laktat werden 120 min nach Austauschende noch 40 %, nach 240 min dagegen nur

noch 19 % im Bereich von 0 - 5 mmHg gemessen, wobei zu diesem Zeitpunkt 58 % aller Werte zwischen 25 - 40 mmHg liegen. Die Mittelwerte haben sich 120 min nach Austauschende auf  $17,1 \pm 2,6$  mmHg, am Ende des Versuchs dagegen auf  $33,6 \pm 1,7$  mmHg erhöht.

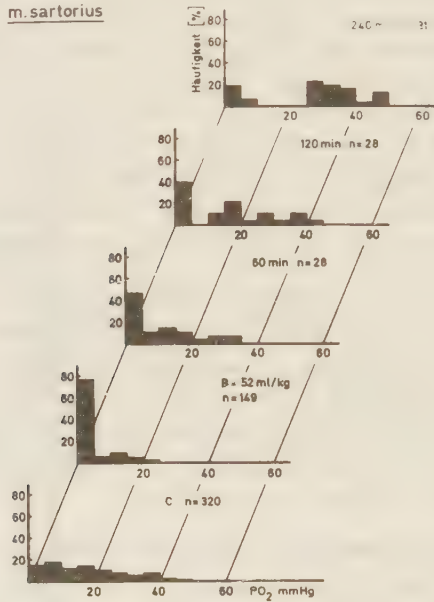


Abb. 7  $PO_2$ -Verteilung auf der Oberfläche des m. sartorius vor und nach Blutersatz durch stromafreie Hämoglobinlösung und Dextran 60 (Verhältnis 4 : 1) und nachfolgender Ringer-Laktat Infusion über 180 min  
(C = Kontrollwerte, B = Blutentzug von 52 ml/kg KG, 60 min, 120 min, 240 min = Zeitpunkte der Messungen nach Austauschende)

Abb. 8 zeigt das Verhalten von Sauerstoffangebot und Sauerstoffaufnahme aus Vollblut und Plasma sowie Veränderungen der arterio-venösen

Sauerstoffsättigungsdifferenz im Vollblut.

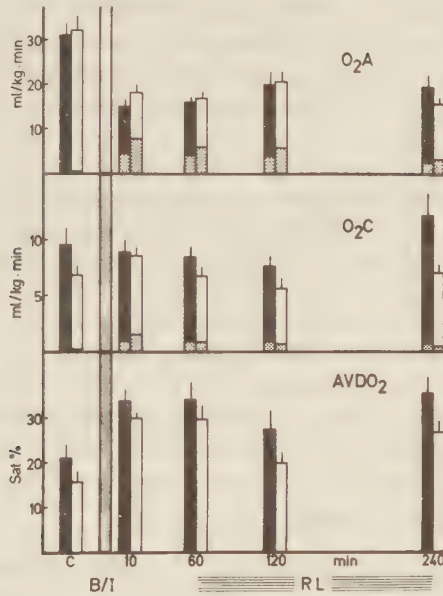


Abb. 8 Sauerstoffangebot ( $O_2A$ ), Sauerstoffaufnahme ( $O_2C$ ) und arterio-venöse  $O_2$ -Sättigungsdifferenz ( $AVDO_2$ ) vor und nach Blutaustausch (Gruppe A = schwarze, Gruppe B = weiße Säulen, Anteil des Plasmahämoglobins = schraffierter Bereich der Säulen, C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsphase, RL = Ringer-Laktat Infusion)

Das Gesamtsauerstoffangebot war in Gruppe A um etwa 50 % ( $p < 0,001$ ), in Gruppe B um etwa 40 % ( $p < 0,005$ ) reduziert, da Vollblut durch Hämoglobinlösungen und Dextran 60 substituiert worden war. Im weiteren Verlauf der Versuche ist das Gesamtsauerstoffangebot in beiden Gruppen nahezu unverändert; zwischen beiden Versuchsserien sind kei-

ne signifikanten Unterschiede nachzuweisen.

In Gruppe A lag der Anteil des Plasmahämoglobins am gesamten Sauerstoffangebot nach 10 min bei 31 %, nach 240 min dagegen nur noch bei 13,5 %. In Gruppe B wurden zum Gesamtsauerstoffangebot nach 10 min 42 % und nach 240 min noch etwa 20,5 % vom Plasmahämoglobin beigesteuert. Gegenüber Gruppe A bestehen allerdings 10 min ( $p < 0,01$ ), 60 min ( $p < 0,01$ ) und 120 min nach Austauschende ( $p < 0,05$ ) signifikante Unterschiede.

Die Gesamtsauerstoffaufnahme dagegen wurde in beiden Gruppen während der Versuche nahezu konstant gehalten, wobei in Gruppe A 240 min nach Austauschende (Erwachen der Hunde aus der Narkose) der Sauerstoffverbrauch anstieg.

Das Plasmahämoglobin deckte in Gruppe A nach 10 min 11 % und nach 240 min 5,5 % der Gesamtsauerstoffaufnahme, während in Gruppe B nach 10 min 18 % und nach 240 min noch 6,5 % der Gesamtsauerstoffaufnahme aus dem Plasmahämoglobin erfolgte. Hier bestehen zwischen beiden Gruppen nur unmittelbar nach Blutersatz signifikante Unterschiede (10 min nach Austauschende  $p < 0,05$ ).

Die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz ist zu diesem Zeitpunkt in Gruppe A um etwa 30 % ( $p < 0,01$ ), in Gruppe B um fast 50 % ( $p < 0,001$ ) angestiegen. Die arterielle Sauerstoffsättigung war in beiden Gruppen unverändert. Die arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz ist in beiden Serien am Ende der Versuche noch signifikant gegenüber den Ausgangswerten erhöht (jeweils  $p < 0,01$ ), jedoch zeigen sich zwischen beiden Gruppen keine statistisch signifikanten Abweichungen.

In Abb. 9 ist die Sauerstoffextraktion aus Plasmahämoglobin in Abhängigkeit von der Sauerstoffextraktion aus Erythrozytenhämoglobin aufgetragen.

Abb. 9 läßt klar erkennen, daß Sauerstoff erst dann aus dem extraerythrozytären Hämoglobin extrahiert wird, wenn die Extraktion aus dem Erythrozytenhämoglobin in Gruppe A etwa 50 % und in Gruppe B etwa 40 % überschreitet.

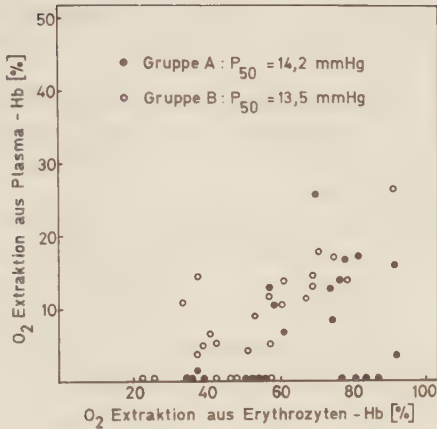


Abb. 9 Verhalten der Sauerstoffextraktion aus Erythrozyten- und Plasmahämoglobin nach Blutersatz durch stromafreie Hämoglobinlösung und Dextran 60  
(48 Einzelwerte von 13 Versuchen)

Die Sauerstoffextraktion aus Plasmahämoglobin beträgt in Gruppe A 10 min nach Austauschende im Mittel  $12,1 \pm 4,2$  %, in Gruppe B  $15,5 \pm 2,4$  %. Unmittelbar vor Beginn der Ringer-Laktat Dauertropfinfusion ist die Sauerstoffextraktion aus Plasmahämoglobin in Gruppe A auf  $8,0 \pm 2,9$  %, in Gruppe B auf  $8,8 \pm 2,8$  % abgesunken. 120 min nach Austauschende beträgt die Sauerstoffextraktion aus extraerythroytären Hämoglobin in Gruppe A nur noch  $2,8 \pm 1,9$  %, in Gruppe B jedoch noch  $5,9 \pm 2,1$  %. Am Ende der Versuche liegt sie in Gruppe A bei  $1,4 \pm 1,4$  %, in Gruppe B bei  $5,6 \pm 2,2$  %.

Tabelle 6 Änderungen von pH, pCO<sub>2</sub>, Base Excess (BE) und Bicarbonatkonzentration (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) vor und nach isovolämischem Austausch von 2/3 des Sollblutvolumens gegen 6 %ige stromafreie Hämoglobininlösung und Dextran 60 (Mittelwert ± SEM, n = 7 in Gruppe A und B)

|                                        |               | Zeit nach Austausche (min)  |                             |                             |                             |  |
|----------------------------------------|---------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--|
| Gruppe A                               | Kontrollwert  | 10                          | 60                          | 120                         | 240                         |  |
| pH                                     | 7,37 ± 0,009  | 7,272 ± 0,024 <sup>d)</sup> | 7,319 ± 0,017 <sup>b)</sup> | 7,323 ± 0,018 <sup>a)</sup> | 7,323 ± 0,017 <sup>a)</sup> |  |
| pCO <sub>2</sub> (mmHg)                | 42,3 ± 0,7    | 50,5 ± 3,2 a)               | 49,8 ± 1,8 d)               | 50,5 ± 3,4 a)               | 47,4 ± 2,5 a)               |  |
| BE (mval/l)                            | -0,7 ± 0,4    | -2,9 ± 0,5                  | 0,1 ± 0,4                   | 0,0 ± 0,5                   | -0,9 ± 0,4                  |  |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mval/l) | 23,8 ± 0,4    | 21,7 ± 0,5 d)               | 24,8 ± 0,4                  | 24,4 ± 0,4                  | 23,4 ± 0,4                  |  |
| <hr/>                                  |               |                             |                             |                             |                             |  |
| Gruppe B                               | Kontrollwert  | 10                          | 60                          | 120                         | 240                         |  |
| pH                                     | 7,395 ± 0,019 | 7,265 ± 0,026 <sup>d)</sup> | 7,325 ± 0,022 <sup>a)</sup> | 7,291 ± 0,020 <sup>d)</sup> | 7,269 ± 0,034 <sup>c)</sup> |  |
| pCO <sub>2</sub> (mmHg)                | 40,7 ± 1,5    | 51,5 ± 2,3 d)               | 49,8 ± 1,8 d)               | 54,3 ± 2,9 d)               | 61,2 ± 6,4 c)               |  |
| BE (mval/l)                            | 0,1 ± 1,1     | -2,8 ± 0,9                  | 0,8 ± 0,9                   | 0,2 ± 1,0                   | 1,3 ± 0,9                   |  |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mval/l) | 24,4 ± 0,9    | 21,9 ± 0,8 d)               | 25,2 ± 0,9                  | 24,5 ± 0,9                  | 25,5 ± 0,8                  |  |

Signifikanz gegenüber dem Kontrollwert:

a) p < 0,05

b) p < 0,02

c) p < 0,01

d) p < 0,005

## V. Verhalten des Säure-Basen-Status

In Tabelle 6 sind Ausgangssituation und Veränderungen von pH,  $p\text{CO}_2$ , Base Excess (BE) und Bicarbonatkonzentration wiedergegeben.

Unmittelbar nach Entblutung und anschließender Infusion besteht eine metabolische Azidose, wobei die pH-Werte in beiden Gruppen signifikant vermindert sind.

Die  $p\text{CO}_2$ -Werte zeigen nach der Reanimationstherapie eine gegenüber den Kontrollwerten signifikante Erhöhung, die in beiden Gruppen bis Versuchsende bestehen bleibt.

Die BE-Werte lassen in beiden Gruppen während des gesamten Versuchs keine signifikanten Veränderungen erkennen.

Die Bicarbonatkonzentration ist sowohl in Gruppe A als auch in Gruppe B 10 min nach Austauschende signifikant (jeweils  $p < 0,005$ ) abgefallen, kehrt aber während des weiteren Versuchsablaufs in den Bereich der Kontrollwerte zurück.

## VI. Veränderungen der Natrium- und Kaliumkonzentration im Plasma der Gesamtbilirubin-, Kreatinin- und Harnstoffkonzentration sowie des kolloidosmotischen Drucks im Plasma

Wie Tabelle 7 zu entnehmen ist, verhält sich die Natriumkonzentration im Plasma in beiden Gruppen während der Versuche nahezu konstant.

Die Kaliumkonzentration im Plasma zeigt zunächst keine signifikanten Veränderungen, ist jedoch am siebten postoperativen Tag in Gruppe A auf 5,5 mval/l ( $p < 0,001$  gegen K), in Gruppe B auf 5,3 mval/l ( $p < 0,05$  gegen K) angestiegen.

Die Gesamtbilirubin- und Kreatininkonzentration im Plasma weisen während der gesamten intra- und postoperativen Beobachtungsperiode keine statistisch signifikanten Veränderungen auf.

Tabelle 7 Veränderungen der Plasma-Natrium- und Kaliumkonzentration, der Gesamtbilirubin-, Kreatinin- und Harnstoffkonzentration im Plasma und des kolloidosmotischen Drucks (KOD) im Plasma vor und bis 7 Tage nach isovolämischem Austausch von 2/3 des Sollblutvolumens gegen 6 %ige stromafreie Hämoglobininlösung und Dextran 60 (Mittelwert  $\pm$  mittlerer Fehler des Mittelwertes, Gruppe A und B jeweils n = 7)

| Gruppe A         |                       | Kontrollwert     | Zeit nach Austauschende      |                              |                 |                              | 1. Tag          | 3. Tag           | 5. Tag           | 7. Tag                        |
|------------------|-----------------------|------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------------------|
|                  |                       |                  | 10'                          | 60'                          | 120'            | 240'                         |                 |                  |                  |                               |
| Na <sup>+</sup>  | (mval/l)              | 148,0 $\pm$ 1,1  | 141,7 $\pm$ 0,7              | 145,7 $\pm$ 0,7              | 147,1 $\pm$ 0,7 | 144,8 $\pm$ 0,9              |                 |                  |                  |                               |
| K <sup>+</sup>   | (mval/l)              | 3,48 $\pm$ 0,16  | 2,97 $\pm$ 0,07              | 3,07 $\pm$ 0,08              | 3,19 $\pm$ 0,09 | 3,74 $\pm$ 0,12              | 3,81 $\pm$ 0,25 | 3,99 $\pm$ 0,56  | 4,41 $\pm$ 0,29  | 5,49 $\pm$ 0,16 <sup>c)</sup> |
| Gesamt-Bilirubin | (mg%)                 | 0,20 $\pm$ 0,03  |                              |                              | 0,35 $\pm$ 0,07 |                              | 0,34 $\pm$ 0,09 |                  | 0,36 $\pm$ 0,13  | 0,39 $\pm$ 0,04               |
| Kreatinin        | (mg%)                 | 0,95 $\pm$ 0,07  |                              |                              | 0,88 $\pm$ 0,05 |                              | 0,91 $\pm$ 0,19 | 1,15 $\pm$ 0,27  | 0,98 $\pm$ 0,08  | 0,84 $\pm$ 0,05               |
| Harnstoff        | (mg%)                 | 32,95 $\pm$ 4,12 |                              |                              |                 |                              |                 | 29,40 $\pm$ 4,89 | 25,37 $\pm$ 6,19 | 26,58 $\pm$ 6,25              |
| KOD              | (cm H <sub>2</sub> O) | 29,7 $\pm$ 2,7   | 39,9 $\pm$ 3,3 <sup>a)</sup> | 28,1 $\pm$ 5,0               | 25,8 $\pm$ 1,2  | 21,9 $\pm$ 1,2 <sup>a)</sup> | 29,6 $\pm$ 1,8  | 35,5 $\pm$ 2,5   | 35,4 $\pm$ 2,4   | 35,5 $\pm$ 2,6                |
|                  |                       |                  |                              |                              |                 |                              |                 |                  |                  |                               |
| Gruppe B         |                       | Kontrollwert     | 10'                          | 60'                          | 120'            | 240'                         | 1. Tag          | 3. Tag           | 5. Tag           | 7. Tag                        |
| Na <sup>+</sup>  | (mval/l)              | 148,5 $\pm$ 1,4  | 135,6 $\pm$ 1,3              | 141,4 $\pm$ 0,7              | 143,4 $\pm$ 0,9 | 144,8 $\pm$ 1,4              |                 |                  |                  |                               |
| K <sup>+</sup>   | (mval/l)              | 3,30 $\pm$ 0,21  | 2,98 $\pm$ 0,09              | 2,84 $\pm$ 0,07              | 3,12 $\pm$ 0,11 | 3,69 $\pm$ 0,12              | 4,07 $\pm$ 0,17 | 4,05 $\pm$ 0,26  | 4,51 $\pm$ 0,27  | 5,27 $\pm$ 0,67 <sup>a)</sup> |
| Gesamt-Bilirubin | (mg%)                 | 0,23 $\pm$ 0,03  |                              |                              | 0,16 $\pm$ 0,06 |                              | 0,28 $\pm$ 0,04 | 0,25 $\pm$ 0,04  | 0,30 $\pm$ 0,07  | 0,23 $\pm$ 0,03               |
| Kreatinin        | (mg%)                 | 0,64 $\pm$ 0,05  |                              |                              | 0,71 $\pm$ 0,08 |                              | 0,60 $\pm$ 0,04 | 0,65 $\pm$ 0,06  | 0,69 $\pm$ 0,04  | 0,70 $\pm$ 0,03               |
| Harnstoff        | (mg%)                 | 30,41 $\pm$ 1,36 |                              |                              |                 |                              |                 | 27,77 $\pm$ 2,72 | 27,16 $\pm$ 2,14 | 25,80 $\pm$ 4,38              |
| KOD              | (cm H <sub>2</sub> O) | 29,8 $\pm$ 0,4   | 36,9 $\pm$ 1,1 <sup>c)</sup> | 35,1 $\pm$ 0,8 <sup>c)</sup> | 27,8 $\pm$ 1,4  | 24,3 $\pm$ 1,1 <sup>c)</sup> | 28,9 $\pm$ 1,2  | 32,9 $\pm$ 1,2   | 32,0 $\pm$ 1,4   | 33,4 $\pm$ 0,9 <sup>b)</sup>  |

Signifikanz gegenüber dem Kontrollwert:

- a) p  $\leq$  0,05
- b) p  $\leq$  0,005
- c) p  $\leq$  0,001

Wie weiter aus Tabelle 7 ersichtlich, konnten wir auch keine Abweichungen der Plasmaharnstoffkonzentrationen von den Normwerten während der postexperimentellen Überwachungsperiode beobachten. Die Infusion von stromafreien Hämoglobinlösungen und Dextran 60 bewirkte einen signifikanten Anstieg des kolloidosmotischen Drucks (Gruppe A:  $p < 0,05$  gegen K, Gruppe B:  $p < 0,001$  gegen K).

Nach der Infusion von Ringer-Laktat über 180 min war der kolloidosmotische Druck in beiden Gruppen gegenüber dem Kontrollwert signifikant abgefallen (Tabelle 7).

Während der postexperimentellen Beobachtungsperiode war der kolloidosmotische Druck nur in Gruppe B am siebten Tage signifikant angestiegen.

## VII. Pathologische Veränderungen

In Gruppe A verstarben zwei von sieben Hunden vorzeitig. Ein Tier kam am dritten postoperativen Tag an einer Lobärpneumonie ad exitum. Die Abdominalorgane waren unauffällig. Ein zweites Versuchstier überlebte nach der Reanimationstherapie nur neun Stunden. Bei der Sektion zeigten beide Lungen weiße, kleinfleckige Auflagerungen und waren von harter Konsistenz. Im Abdomen beobachteten wir ein retroperitoneales Ödem sowie ein subseriöses Ödem der Magenwand. Histologisch wurde bei diesem Hund eine herdförmige, zum Teil konfluierende Bronchopneumonie nachgewiesen, die sehr wahrscheinlich schon vor Versuchsbeginn bestand. Mikroskopisch wurde zudem im Bereich der Lungenarterien eine stärkere ödematöse Auflockerung des Interstitiums festgestellt. Die Niere wies Veränderungen im Sinne einer chronischen Pyelonephritis, aber keine Hämoglobinzylinder auf.

In Gruppe B, - in dieser Serie überlebten alle Tiere -, wurden die Hunde an verschiedenen Tagen nach Versuchsende eingeschläfert. Bei zwei Hunden (✚ 4./11. Tag) zeigte das Gewebe der linken Lunge großfleckige, dunkelrote Veränderungen, die sich teilweise von der Oberfläche in die Tiefe fortsetzten. Bei je einem Tier (✚ 2./4. Tag) waren beide Lungen basal, beziehungsweise der rechte Unterlappen

hilusnah atelektatisch. Es ergaben sich aber makroskopisch bei keinem Hund Hinweise auf ein interstitielles oder alveoläres Lungenödem.

Im Gegensatz zur Lunge waren Herz, Leber, Duodenum, Jejunum und Ileum völlig unauffällig. Auch die Nieren zeigten makroskopisch keine Veränderungen, die auf eine Nephrotoxizität des infundierten Hämoglobins schließen lassen würden.

In Tabelle 8 sind die pathologisch-histologischen Befunde der Versuchstiere in Gruppe B zusammengestellt, die in unmittelbaren Zusammenhang mit der Infusion von stromafreier Hämoglobinlösung gebracht werden können.

Die Lunge war nur bei zwei von sieben Tieren (✝ 7./11. Tag) völlig ohne pathologischen Befund. Bei drei Tieren wurden herdförmig Makrophagen mit Siderinspeicherung und eine deutliche Vermehrung von Megakaryozyten in den Lungenkapillaren beobachtet. Bei dem am vierten postoperativen Tag eingeschläferten Versuchstier zeigten sich geringfügige Hämosiderinablagerungen in den atelektatischen Bezirken und ein mäßiggradiges, herdförmiges Lungenödem.

Die Leber wies bei fünf von sieben Tieren eine geringgradige bis mittelschwere Sternzellsiderose auf.

Auch in der Niere zeigten sich bei sechs von sieben Tieren geringe Hämosiderinablagerungen meist im Bürstensaumbereich der Hauptstückkuppen.

Tabelle 8 Pathologisch-histologische Befunde bei den Versuchstieren in Gruppe B

eingeschläfert am

2. Tag 4. Tag 5. Tag 7. Tag 7. Tag 11. Tag 14. Tag

|                |                                                                                  |                                                                                  |                                                                                                                                                                                                         |                                                                              |                                                                                           |                                                                                              |                                                                                                 |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Lunge</u>   | eisenspeichern-<br>de Makrophagen, deutliche<br>Vermehrung der<br>Megakaryozyten | mäßiggradige<br>Hämosiderin-<br>speicherung                                      | deutliche Vermehrung von<br>Megakaryozyten,<br>herdförmig<br>Makrophagen<br>mit Siderin-<br>speicherung<br>mittelgradige<br>Sternzellsiderose                                                           | o. B.                                                                        | häufiger Megakaryozyten in<br>Lungenkapillaren                                            | o. B.                                                                                        | sehr vereinzelt<br>Makrophagen mit<br>Hämosiderinspeicherung                                    |
| <u>Myokard</u> | o. B.                                                                            | o. B.                                                                            |                                                                                                                                                                                                         | o. B.                                                                        | o. B.                                                                                     | o. B.                                                                                        | o. B.                                                                                           |
| <u>Leber</u>   | mittelschwere<br>Sternzellsiderose                                               | o. B.                                                                            | mittelgradige<br>Sternzellsiderose                                                                                                                                                                      | o. B.                                                                        | mäßiggradige<br>Sternzellsiderose mit<br>grobscholliger<br>Ablagerung von<br>Eisenpigment | mittelgradige<br>Sternzellsiderose                                                           | geringgradige<br>Sternzellsiderose                                                              |
| <u>Niere</u>   | schwache,meist<br>homogene Eisen-<br>reaktion im Lumen und<br>Bürstensaum        | geringe, feinstäubige Hämosiderinablagerungen im Bereich der<br>Hauptstückkuppen | Hauptstücke im<br>Bürstensaum-<br>reich eisenpositiv; Tubuluslumina eiweiß-<br>artige Zylinder mit homogener<br>Eisenreaktion,<br>eisenpositives<br>Pigment im Bereich der BOW-<br>MANN'schen<br>Kapsel | geringe renale<br>Siderose, abgestoßene<br>eisenpositive<br>Hauptstückkuppen | o. B.                                                                                     | feinstäubige<br>geringgradige<br>Hämosiderinablagerung im<br>Hauptstückbereich (Bürstensaum) | Im Nierenparenchym und vereinzelt Hauptstücken sehr<br>geringgradige<br>Hämosiderinablagerungen |

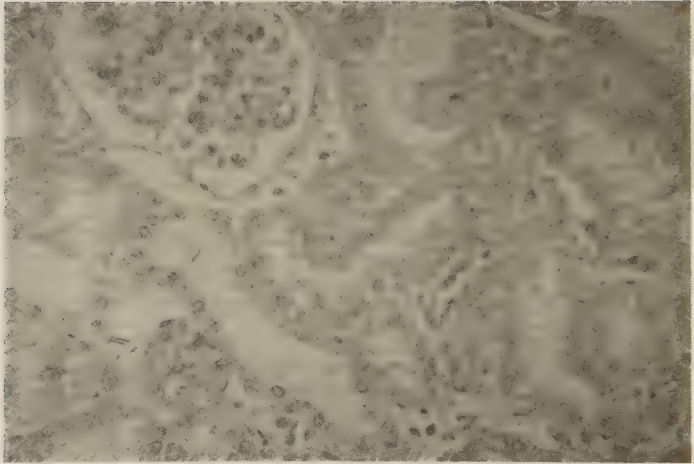


Abb. 10 Versuchstier vom 24. 4. 75 (Gruppe B), eingeschläfert am 11. Tag nach dem Versuch  
(Färbung: Berliner-Blau-Reaktion Vergrößerung 250 x)  
Geringe Eisenablagerungen innerhalb von wenigen proximalen Tubuluszellen (linke untere Ecke), ansonsten kein pathologischer Befund.

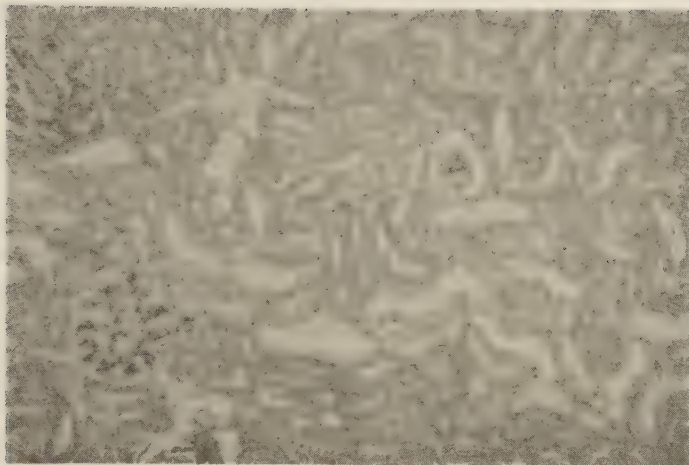


Abb. 11 Versuchstier vom 24. 4. 75 (Gruppe B), eingeschläfert am  
11. Tag nach dem Versuch  
(Färbung: PAS Vergrößerung 125 x)  
Normale Verhältnisse im Bereich der glomerulären Basal-  
membran.

## D. DISKUSSION

### I. Stromafreie Hämoglobinlösung - ein ideales Blutersatzmittel?

#### a) Therapeutische Bedeutung und Herstellung von stromafreien Hämoglobinlösungen

Die ständig steigende Zahl umfangreicher chirurgischer Eingriffe führte in den letzten Jahren zu einem immer größeren Bedarf an homologem Konservenblut. Trotz organisatorischer Verbesserungen im Blutspendewesen treten zunehmend Engpässe auf. Darüber hinaus ist die homologe Bluttransfusion mit erheblichen Risiken und Gefahren belastet, wobei der Serumhepatitis (25 % ikterisch und 75 % anikterisch) (20, 28) die größte Bedeutung zukommt. Ferner enthalten Blutkonserven in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer Plättchen- und Erythrozytenaggregate (122), die den viskösen Fließwiderstand des Blutes noch zusätzlich erhöhen und zu einer Blockierung der Mikrozirkulation, vor allem in der Lunge, führen können (84). Bestehen massive postkapilläre Stasen, kann von einer initialen Vollbluttransfusion keine Verbesserung der Mikrozirkulation erwartet werden (129). In diesem Zusammenhang ist auch die lagerungsbedingte Erhöhung der Sauerstoffaffinität der Erythrozyten zu beachten (17, 53, 87); nach Massivtransfusionen von älterem, homologem Konservenblut wird eine Gewebshypoxie eher verstärkt als gebessert (13, 19, 72). Weiter sind als Nachteile von Blutkonserven auch Inkompatibilitäts- und hyperergische Reaktionen zu erwähnen (40, 123). Eine sofortige Anwendung ist in Notfällen nicht möglich, da die ordnungsgemäße Testung (Kreuzprobe 30 min) zeitraubend ist (130).

Ein klinisch anwendbares **B l u t e r s a t z m i t t e l** stellt nur dann eine echte Alternative zu Vollblut dar, wenn es ausreichende Volumenwirkung entfaltet und in der Lage ist, Sauerstoff zu transportieren und ans Gewebe abzugeben. Nach den Richtlinien des American National Research Council (96) sollte die intravasale Halbwertszeit etwa 6, wenn möglich 12 Stunden betragen. Ferner muß ein Blutersatzmittel hepatitissicher und lagerungsstabil sein, unveränderte Sauerstofftransporteigenschaften und eine niedrige Eigenviskosität besitzen. Zudem darf es weder antigen wirksam noch organotoxisch sein.

Da intraerythrozytäres Hämoglobin in der Lage ist, Sauerstoff reversibel zu binden, wurde in der Vergangenheit vielfach versucht, Hämoglobininlösungen als Blutersatzmittel experimentell und klinisch anzuwenden.

Verschiedene Herstellungsverfahren für Hämoglobininlösungen sind in Tabelle 9 zusammengestellt.

Weder AMBERSON et al. (1) noch HAMILTON et al. (47) konnten die lipoidhaltigen Stromabestandteile vollständig entfernen. Erst RABINER et al. (105, 106) gelang es, aus verfallenen Humanblutkonserven, die zur Transfusion nicht mehr verwendet werden konnten, Hämoglobininlösungen herzustellen, aus denen das Erythrozytenstroma völlig eliminiert war. Diese Methode ist dann von anderen Autoren modifiziert worden (siehe Tabelle 9).

BONHARD (10) gab eine Methode an, mit der eine hepatitissichere, lagerungsstabile stromafreie Hämoglobininlösung mit hohem 2,3-DPG Gehalt hergestellt werden kann. Dabei werden Humanerythrozyten in einer verdünnten Lösung von  $\beta$ -Propiolakton bei Temperaturen zwischen 5° C und 15° C behandelt. Danach wird das Gemisch mit einer neutralen oder schwach alkalischen Lösung gewaschen, um den Überschuß von  $\beta$ -Propiolakton und seiner Reaktionsprodukte auszuwaschen. Die weitere Behandlung des hämolysierten Blutes erfolgt analog dem von BONHARD früher angegebenen Verfahren (siehe Tabelle 9 (8, 9)). Die Viskosität dieser Lösung ist, - wie auch bei den in den vorliegenden Versuchen verwendeten Lösungen -, der Viskosität des Plasmas nahezu identisch. Daher wird die Vollblutviskosität durch Infusion dieser Hämoglobininlösung in vivo gesenkt (141, 142).

#### b) Bedeutung und Einfluß der Erythrozytenmembran bei Herstellung der Lösungen

HAMILTON et al. (48) hatten 1947 Ergebnisse über Hunderversuche veröffentlicht, in denen 50 ml/kg KG Blut (etwa 2/3 des Blutvolumens) isovolämisch durch eine 7 %ige Hundehämoglobininlösung ersetzt worden waren. Obwohl etwa 90 - 95 % der lipoidhaltigen Stromabestand-

Tabelle 9 Herstellungsverfahren von Hämoglobinlösungen zur intravenösen Infusion

| AMBERSON et al.(1)                      | HAMILTON et al.(47)                       | BRAASCH (11)                             | RABINER et al.(105)                         | BONNARD (8, 9)                              | MOSS et al.(91,92)                      | BROWDIE und SMITH (14)                                                    |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| frische Rinder-erythrozyten             | Hundeerythrozyten                         | Schweine-erythrozyten                    | Humanerythrozyten                           | Humanerythrozyten                           | Humanerythrozyten                       | Humanerythrozyten                                                         |
| 2fach gewaschen mit Ringer-Locke-Lösung | Verdünnung 1 : 1 mit isotoner NaCl Lösung | 3fach gewaschen mit isotoner NaCl Lösung | 4fach gewaschen, 1 : 1 mit 1,6g/100 ml NaCl | 4fach gewaschen, 1 : 1 mit 1,6g/100 ml NaCl | 2fach gewaschen, 1 : 1 mit dest. Wasser | Nach Zuführen v. dest. Wasser im Verhältnis 1 : 1 Einfrieren und Auftauen |

#### H Ä M O L Y S E

|                                  |                                                                                                                  |                     |                                                                   |                                                                                                         |                                   |                         |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Verdünnung 1 : 1 mit aqua dest.; | gewaschene Zellen mit aqua dest.                                                                                 | 10 ml Na-oleat ad   | Verdünnung 1:4,5 ideal                                            | Verdünnung 1:4,5 mit de-                                                                                | Kationenaustausch zur Reduzierung | Ansäuern mit 0,5 n HCl; |
| Abkühlung auf 5° C               | 1 : 2 verdünnt; Zugabe von 0,1 n HCl; pH 5,7 - 5,8, ständiges Rühren der Mixtur; Verdünnung 1 : 4 mit aqua dest. | 100 ml Erythrozyten | millimolar Natriumphosphat, pH=7,4; Präzipitation des Zellstromas | mineralisiertem, der Kaliumkonzentration; Ansäuern des Hämolysates im Säureballon (pH = 5-6; 5,7 - 5,8) | Ansäuern                          | pH = 5,7 - 5,8          |

#### Z E N T R I F U G A T I O N

|                                         |                                                                                                        |            |                                                                                                                          |                                                                                 |                                                                                                            |                                                                                                                   |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Abheben des Überstandes; pH = 7,3 - 7,4 | Stromaentfernung durch Filtration; Entfernen des Kaliums durch Kationenaustauscher Sterile Filtration. | Filtration | Filtration Einstellen der Kaliumkonzentration auf physiologische Werte; Sterile Dialyse unter Druck; Sterile Filtration. | Herabsetzen des Kaliumgehalts durch Kationenaustauschharze; Sterile Filtration. | Filtration Einstellen der Elektrolytkonzentration und des pH auf physiologische Werte; Sterile Filtration. | Kationenaustausch zur Reduzierung der Kaliumkonzentration; nach 10 min erneute Zentrifugation; Sterile Filtration |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

teile entfernt waren, verursachten diese homologen Hämoglobinlösungen renale Funktionseinschränkungen. Auch AMBERSON et al. (1) beobachteten nach Perfusion mit Rinderhämoglobinlösungen bei Katzen häufig Anurie. BRANDT et al. (12) zeigten, daß die Infusion von Humanhämoglobin beim Menschen zum Absinken der glomerulären Filtrationsrate, des renalen Plasmaflusses und der Urin- und Natriumausscheidung führte. Dabei waren die Harnstoffwerte im Blut erhöht. Eine Einschränkung der Nierenfunktion nach Verabreichung von 350 - 500 ml Humanhämoglobinlösung wurde auch von MILLER et al. (86) an Patienten beobachtet. Dabei war nicht klar, ob diese Effekte bedingt waren durch das in geringem Ausmaß noch vorhandene Zellstroma, durch bakterielle Verunreinigung, durch chemische Veränderungen im Hämoglobinmolekül oder ob sich das Hämoglobin oder seine Abbauprodukte in der Niere ablagerten und die Nierentubuli in ihrer Funktion beeinträchtigten (47).

Die Nephrotoxizität der lysierten Erythrozyten stellte somit eine gewichtige Kontraindikation gegen die Anwendung von nicht vollständig gereinigten Hämoglobinlösungen als Blutersatzmittel dar und war Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Diese ergaben, daß die Nierenschädigung durch eine disseminierte intravasculäre Coagulation (DIC) zustande kam. Sie trat sowohl nach Infusion von 10 ml/kg KG hämolysiertem Blut als auch nach Gabe von Hämoglobinlösung mit einem Stromalipidgehalt von nur 5 - 10 % auf (5, 48, 103, 105, 107). Verursacht wird diese intravasale Gerinnung durch eine Freisetzung von ADP und Erythrozytin, einem Lipoprotein, das in der Erythrozytenmembran lokalisiert ist. Dadurch erfolgt eine Aktivierung des endogenen Gerinnungssystems (102, 128).

Dies führt zu glomerulären Fibrinablagerungen, die die Nierenfunktion erheblich beeinträchtigten (47, 48). Bei der histologischen Untersuchung der Nieren wurden bei einigen Tieren unter anderem Obstruktionen und Nekrosen im proximalen und distalen Tubulus sowie Hämoglobinzylinder in kleinen intrarenalen Gefäßen gefunden (4, 52, 105).

1967 konnten RABINER et al. (105) am Michael Reese Hospital (Chicago, Illinois) erstmals völlig stromafreie Hämoglobinlösungen herstellen. Das Fehlen gerinnungsaktiver Substanzen in den Lösungen wurde als

wesentliches Kriterium für die Reinheit der Präparate gewertet. Nach vollständiger Entfernung der lipoidhaltigen und gerinnungsaktiven Bestandteile des Erythrozytenstromas konnte in Hunderversuchen weder eine Verminderung der Urinausscheidung noch eine Einschränkung der glomerulären Filtration an Hand von Clearance-Untersuchungen festgestellt werden. Die funktionellen und auch morphologischen renalen Veränderungen waren daher den Zellstromabestandteilen, nicht aber dem Humanhämoglobinmolekül per se zuzuschreiben.

Der Befund der fehlenden Nephrotoxizität wurde von RELIHAN et al. (109) bestätigt. Diese Autoren konnten ferner zeigen, daß Humanhämoglobin beim Hund auch nach einer Periode von renaler Ischämie sowie bei chronischer Azidose keine nephrotoxischen Nebenwirkungen ausübte (110, 111). Auch nach 48- bis 72stündiger Dehydratation und im hämorrhagischen Schock konnten PESKIN et al. (101) am Hund keine Zeichen von Nephrotoxizität stromafreier Humanhämoglobinlösungen nachweisen. Fehlende Nierentoxizität stromafreier Hämoglobinlösung wurde ferner bei zwei weiteren Spezies, nämlich beim Affen (*macaca irus*, Gewicht 3 - 5 kg) (7) und beim Zwergschwein nachgewiesen (150, 151).

Hinsichtlich der Nierenfunktion bestünde somit keine Kontraindikation bei der Anwendung von stromafreien Hämoglobinlösungen als Blutersatzmittel.

Weitere Untersuchungen zeigten, daß die quantitative Elimination der Stromabestandteile auch auf die im Plasma enthaltenen Gerinnungsfaktoren großen Einfluß hatte (48, 91, 100). Nichtgereinigte Lösungen verursachten nach RABINER (105) eine verkürzte Gerinnungszeit und einen ansteigenden Prothrombinverbrauch. Nach Entfernen des Zellstromas waren dagegen Prothrombinzeit und partielle Thromboplastinzeit verlängert, wobei dies auf teilweise Inaktivierung von Faktor VIII und in einem geringeren Ausmaß auch auf die Reduzierung von Faktor V und Fibrinogen zurückzuführen ist (91, 100). Nach völliger Entfernung der Erythrozytenmembran hatten Hämoglobinlösungen somit eine Antikoagulantienwirkung. MOSS konnte diese Nebenwirkung durch Absorption mit Aluminiumhydroxylgel aufheben (91, 92, 100). USZYŃSKI et al. (154) konnten diese Ergebnisse nicht bestätigen; sie wiesen nach, daß die Fibrinogenkonzentration und die Konzen-

trationen der Gerinnungsfaktoren V, VII, VIII, X und XI beim Hund unmittelbar nach Infusion von 25 - 30 ml/kg KG stromafreier Hämoglobininlösung proportional zum Grad der Dilution abfielen. Ihre stromafreie Hämoglobininlösung scheint daher weder antithrombotisch noch fibrinolytisch wirksam zu sein.

COCHIN et al. (26) konnten zeigen, daß Hämoglobininlösungen keine Antigen-Antikörperreaktion hervorrufen, wenn die in der Zellmembran befindlichen lipoidhaltigen Bestandteile vollständig entfernt sind. MONKE et al. (88) sahen bei Tierversuchen an Hunden nach Infusion von Hundehämoglobin vereinzelt Reaktionen im Sinne eines anaphylaktischen Schocks und führten dies ebenfalls auf das noch vorhandene Erythrozytenstroma zurück. AMBERSON (2) dagegen infundierte Humanhämoglobininlösungen mit geringen Stromabestandteilen wiederholt verschiedenen Patienten, beobachtete jedoch keine anaphylaktoiden Reaktionen.

KOLESNIKOV et al. (65) von der Hospital-Chirurgischen Klinik der militärmedizinischen Akademie in Leningrad verabreichten 18 Patienten nach Thoraxoperationen je 700 - 1100 ml Hämoglobininlösung, die nach einer Modifikation der von HAMILTON et al. (47) angegebenen Methode hergestellt und daher nicht völlig frei von lipoidhaltigen Stromabestandteilen war. Bei diesen Patienten, die zwischen 19 und 68 Jahre alt waren, sollte postoperativ die Sauerstofftransportfunktion des Blutes erhöht werden, bis eine ausreichende Erythropoese einsetzt. Als Kontraindikationen für Hämoglobininfusionen wurden Hypertonie, Koagulopathien, Thromboseneigung, ferner akute und chronische Nierenschäden angegeben. Es wurden etwa 14 ml/kg KG Hämoglobininlösung mit einer Geschwindigkeit von 10 ml/min infundiert. Während der Infusionsdauer von etwa 1 1/2 Stunden traten keine unerwünschten Nebenreaktionen auf. Es kam bei keinem Patienten zur Tachykardie.

Detaillierte experimentelle und klinische Studien zur Frage einer möglichen Antigen-Antikörperreaktion sind bislang allerdings nicht bekannt. Da aber bei klinischer Anwendung von Hämoglobininlösungen dem Patienten Fremdeiweiß infundiert würde, ist möglicherweise trotz vollständigen Entfernens der Erythrozytenmembran mit Unverträglichkeitserscheinungen zu rechnen, wie sie zum Beispiel auch

bei Verabreichung von Humanalbumin verschiedener Konzentrationen beobachtet werden (114, 115).

Durch präformierte natürliche Antikörper, die bei jedem menschlichen und höheren tierischen Individuum zu finden sind (49), könnte es bei Tierversuchen nach Infusion von Humanhämoglobin theoretisch zu immunologisch bedingten Unverträglichkeitserscheinungen kommen. So konnten CHERNOFF (24) und SAZAZUKI (119) zeigen, daß das Humanhämoglobinmolekül bei Kaninchen schwach antigen wirksam ist; GOODMAN (39) gelang es jedoch nicht, die Bildung spezifischer Antikörper am Kaninchen nach Infusion von Humanhämoglobin nachzuweisen.

Inwieweit in diesem "xenogenen System" das Erythrozytenstroma an immunologischen Reaktionen beteiligt ist, ist ungeklärt.

BROWDIE und SMITH (14) beobachteten nach Infusion von stromafreien Humanhämoglobininlösungen bei einem von drei Kaninchen einen wiederholten, deutlichen Blutdruckabfall. Obwohl der Hämatokrit nur bis 21 % gesenkt wurde, starben zwei von drei Tieren innerhalb von 24 Stunden.

Bei den eigenen Versuchen trat bei einem von den neuen Tieren, die Humanhämoglobin erhalten hatten, eine generalisierte Urticaria auf. Zu sichtbaren Unverträglichkeitserscheinungen kam es dagegen nicht nach Infusion von Hundehämoglobin (fünf Tiere). Bei keinem der 14 Versuchstiere sahen wir Kreislaufreaktionen, die auf anaphylaktoide Unverträglichkeitserscheinungen schließen lassen.

JESCH et al. (57) beobachteten bei isovolämischem Austausch von 20 ml/kg KG Blut gegen 6 %ige stromafreie Hämoglobininlösung Unterschiede von Blutdruck, Herzfrequenz, Herzzeitvolumen, Säure-Basen-Status und Blutgaswerten weder nach Verabreichung von Hundehämoglobin (fünf Tiere) noch nach Anwendung von Humanhämoglobin (12 Tiere). Ferner waren während dieser Versuche keinerlei Hautveränderungen aufgefallen.

Somit können klinisch manifeste Unverträglichkeitserscheinungen beim Hund nach Verabreichung von Humanhämoglobin mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Ob allerdings bei wiederholter Anwendung von stromafreien Hämoglobinlösungen eine Sensibilisierung stattfindet, muß offen bleiben.

c) Blutersatz durch Hämoglobinlösungen: Vergleichende Untersuchungen bei unterschiedlichen Versuchsmodellen

Auf der Basis der in der Literatur vorhandenen Angaben konnte eine chronologische Übersicht über Versuchsmodelle und Ergebnisse bei Prüfung von Hämoglobinlösung als Blutersatzmittel erstellt werden (Tabelle 10).

AMBERSON et al. (1) konnten bereits 1934 zeigen, daß Katzen durch Perfusion mit Rinderhämoglobinlösung einen Hämatokrit von 0 für maximal 24 - 36 Stunden überlebten. Die Hämoglobinlösungen hatten eine Konzentration von 13 - 14 g%; wurden Hb-Lösungen von nur 5 g% angewandt, war die Überlebenszeit auf nur 6 - 7 Stunden verkürzt. Im Vergleich zu Hund und Kaninchen lebten Katzen bei diesen Versuchen am längsten. Die Tiere verstarben, wenn die Plasmahämoglobinkonzentration etwa 3 g% unterschritt und sich darüber hinaus eine metabolische Azidose entwickelte.

HAMILTON et al. (48) berichteten 1947 über Blutersatz mit Hämoglobinlösungen im Hundeversuch (vier Tiere). Trotz Austausch von 50 ml/kg KG Vollblut gegen 7 % Hb-Lösung wurden interstitielle Ödeme nicht beobachtet. Die Hämoglobinkonzentration im Plasma, die initial 5 g% betrug, war erst nach etwa acht Stunden um die Hälfte abgefallen. Nach 72 Stunden war im Plasma kein Hämoglobin mehr nachweisbar. Da jedoch die angewandten Hb-Präparationen noch geringe Anteile von lipoidhaltigen Stromabestandteilen enthielten, war die Nierenfunktion bei allen Versuchstieren vorübergehend erheblich eingeschränkt.

RABINER und PESKIN (101, 105, 106, 107) verwendeten erstmals völlig stromafreie Humanhämoglobinlösungen. Die Endhämoglobinkonzentration dieser Lösungen lag bei 7 g%. Nach isovolämischem Blutersatz von 20 - 40 ml/kg KG Blut stellten sich Blutdruck und Herz-

frequenz sofort wieder auf die Ausgangswerte ein und blieben über die gesamte Versuchsdauer unverändert. Die Autoren infundierten den Versuchstieren 1,4 - 3,3 g/kg KG Hämoglobin. 4 - 5 Stunden nach Infusion wurde mittels  $^{59}\text{Fe}$  markierten homologen Erythrozyten die Verteilung des freien Hämoglobins im Organismus bestimmt. Nach 40,4 % des infundierten Hämoglobins waren zu diesem Zeitpunkt im Plasma, während nur etwa 9,3 % im Urin ausgeschieden waren. In der Leber wurden 23,4 %, in der Niere im Mittel 10,6 % gefunden. RABINER et al. bewiesen mit diesen Versuchen am Hund eine normale Nierenfunktion bei Anwendung von stromafreien Hämoglobinlösungen, wenn die Erythrozytenmembran vollständig entfernt war. Ob mit einer noch höheren Dosierung von Hämoglobin eine renale Funktionseinschränkung oder ein akutes Nierenversagen induziert wird, ist nicht bekannt.

BRAASCH (11) senkte den Hämatokrit von Hunden durch Blut-austausch gegen stromafreie 10 %ige Schweine hämoglobin-lösung innerhalb von drei Stunden auf 1 %. Wenn die Plasmahämoglobinkonzentration über 24 Stunden bei 3 g% gehalten wurde, blieben die Laktatwerte im Normbereich; der Sauerstofftransport war somit offensichtlich ausreichend. Blutdrucke, Herzfrequenz und Atemtätigkeit waren normal. Bei keinem der neun Hunde wurde eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion beobachtet. Bei Ratten dagegen betrug die Überlebenszeit nur etwa drei Stunden, wobei sich während dieser Versuche eine massive Diurese entwickelte. Durch Ligatur der Ureteren konnte jedoch die Überlebenszeit verlängert werden (11).

UNSELD (151) infundierte Zwergschweinen (Minipigs, mittleres Körpergewicht = 24,8 kg) nach 180 min hämorrhagischer Hypotension (arterieller Mitteldruck 30 - 35 mmHg) etwa 1,6 g/kg KG Humanhämoglobin, wobei das entzogene Blut isovolämisch ersetzt wurde. Die Infusion von stromafreier Hämoglobininlösung führte sofort nach Blutersatz zum Anstieg von arteriellem Mitteldruck und Herzzeitvolumen über den Ausgangswert und zur Normalisierung von Schlagvolumen, Herzfrequenz und peripherem Widerstand. Durch den Abstrom des infundierten Hämoglobins aus dem Blutkreislauf sank jedoch das Herzzeitvolumen nach etwa drei Stunden deutlich ab. Die intravasale Halbwertszeit von stromafreier Hämoglobininlösung wurde bei diesen Versuchen an Hand der exponentiellen Elimination des Hämoglobins aus dem

Plasma ermittelt und mit 3,5 Stunden angegeben. Da die intravasale Halbwertszeit nicht durch gleichzeitige Messung von zirkulierendem Blutvolumen und zirkulierender Hämoglobinmenge bestimmt wurde, können weder über die Volumensituation noch über den (intravasalen) Anteil des extraerythrozytären Hämoglobins am Blutvolumen sichere Aussagen gemacht werden. Lediglich zwei von acht Zwergschweinen überlebten dieses Versuchsprotokoll langfristig (mehr als vier Wochen). Offen bleibt, ob die höhere Dosierung stromafreien Hämoglobins bei den verstorbenen Tieren die Ausscheidung des extraerythrozytären Hämoglobins über die Niere verlangsamte und dadurch eine Verlängerung der intravasalen Halbwertszeit vortäuscht.

SUNDER-PLASSMANN et al. (141, 142) wiederholten den isovolämischen Austausch von 20 ml/kg KG Blut solange, bis ein Hämatokrit von 20 % (limitierte Hämodilution, n = 4) beziehungsweise von 7 % (extreme Hämodilution, n = 4) erreicht war. Trotz der starken Viskositäts-senkung in vivo konnte auf Grund der kurzen intravasalen Verweil-dauer stromafreier Hämoglobinlösung durch i s o v o l ä m i s c h e n Blutersatz eine ausreichende Sauerstofftransportkapazität nicht auf-rechterhalten werden. Während bei einem Hämatokrit von 20 % drei von vier Versuchstieren überlebten, verstarben bei einem Hämatokrit von 7 % alle Tiere nach ungefähr 160 min unter den Zeichen einer massi-ven Hypoxie.

PALANI et al. (99, 100) zeigten an Hand des von AMBERSON (1) ange-gebenen Modells, daß Paviane bei Infusion von 6 - 9 %igen stroma-freien Hämoglobinlösungen einen Hämatokrit von 0 für drei Stunden überleben, während die im Kontrollversuch mit Dextran 75 behandel-ten Tiere bei einem Hämatokrit von 2 - 5 % verstarben. Trotz der hohen O<sub>2</sub>-Affinität der verwendeten Hb-Lösung ( $P_{50} = 14$  mmHg) wurden mehr als 50 % des vom infundierten Hämoglobin gebundenen Sauer-stoff extrahiert. Diese Versuche zeigen, daß stromafreie Hämoglo-binlösungen bei Hämatokritwerten unter 5 % das zum Überleben not-wendige Sauerstoffangebot kurzzeitig aufrechterhalten können.

KAPLAN und MURTHY (58) wandten bei normovolämischen Hämodilutions-versuchen stromafreie Hämoglobinlösung an, die plasmaisoton war und physiologische Elektrolytkonzentrationen aufwies. Der  $P_{50}$  die-ser Lösung lag bei 15 mmHg. Während der Versuche waren keine EKG-

Veränderungen zu beobachten, die auf eine Myokardhypoxie schließen ließen. Am Ende des Versuches wurde jedem Tier 10 ml/kg KG autologes Blut retransfundiert. Während der postoperativen Beobachtungsperiode von 7 Tagen kamen 2 von 4 Hunden ad exitum, wenn der Hämatokrit während des Versuchsablaufs auf etwa 8,1 % gesenkt worden war. Bei noch gravierenderem Blutverlust (Hct = 5 %) überlebte kein Versuchstier den extremen isovolämischen Blutersatz mit stromafreier Hämoglobinlösung trotz Retransfusion von Blut länger als zwei Tage.

Langfristiges Überleben von Tieren ist unter diesen extremen Bedingungen in der Literatur bislang nicht beschrieben.

Dagegen überleben, - nach Untersuchungen von MESSMER et al. (76) -, 12 von 16 Tiere bei akuter isovolämischer Hämodilution mit Dextran 60 (Hct = 7,5 %) eine Beobachtungsperiode von sechs Monaten (vier Tiere verstarben innerhalb der ersten fünf Tage nach Versuch an pulmonalen Infekten).

ELIA et al. (34) demonstrierten die Wirksamkeit von stromafreien Hämoglobinlösungen nach experimentellem, hämorrhagischem Schock im Vergleich zu Vollblut und Ringer-Laktat. Die Sauerstoffbindungskurve war nach Infusion von stromafreier Hämoglobinlösung in vivo signifikant nach links verschoben. Trotzdem konnte, - mit einer modifizierten, von CHANCE und WILLIAMS angegebenen Methode (22) -, eine optimale Mitochondrienfunktion in der Leber nachgewiesen werden.

GREENBURG et al. (41) hämolysierten "outdated red cells" mit 1,6 % NaCl-Lösung und PIGPA (eine Lösung aus Pyruvat, Inosin, Glucose, Phosphat und Adenin). Die weitere Herstellung von s t r o m a f r e i e r Hämoglobinlösung erfolgte nach dem von RABINER angegebenen Verfahren. Die 2,3-DPG-Konzentration und der Halbsättigungsdruck dieser Präparate waren auf Grund des Zusatzes von PIGPA gegenüber der früher von RABINER verwendeten Lösung signifikant erhöht. Diese Lösungen ( $P_{50} = 20,8$  mmHg) können zudem lyophilisiert, bei 4° C als Pulver aufbewahrt und bei Bedarf in Ringer-Laktat gebrauchsfertig gelöst werden. Kontrollmessungen ergaben in vitro eine über vier Monate konstante 2,3-DPG-Konzentration. Der  $P_{50}$  war während dieser Zeit ebenfalls unverändert. Als Routinemethode verspricht diese Herstellungsvariante eine universelle Anwendbarkeit und optimalen therapeutischen Effekt bei der Verabreichung von

stromafreien Hämoglobinlösungen, da die Hämoglobinkonzentration in Ringer-Laktat entsprechend der klinischen Indikation eingestellt werden könnte.

Um die Qualität dieser Hämoglobinlösung in vivo beurteilen zu können, wurde das von ELIA et al. (34) angegebene Versuchsmodell verwendet. Die 2,3-DPG-Konzentration im Vollblut sank unmittelbar nach Infusion auf 78,5 %, der  $P_{50}$  im Vollblut auf 88,4 % des Kontrollwertes. Die Sauerstoffaffinität des Gesamthämoglobins war somit in vivo auch nach Infusion der modifizierten Lösung deutlich erhöht. Jedoch zeigt der Vergleich dieser Lösung mit früher von derselben Arbeitsgruppe hergestellten Präparaten, daß der Sauerstoffhalbsättigungsdruck im V o l l b l u t nach Infusion der mit PIGPA inkubierten Lösung signifikant höher lag. Dieses Verfahren könnte eine deutliche Reduzierung der  $O_2$ -Affinität von stromafreier Hämoglobinlösung möglich machen.

Zusammenfassend können folgende positive Eigenschaften von stromafreier Hämoglobinlösung (SFH) festgehalten werden:

1. Im Gegensatz zur Vollblutkonserve ist SFH hepatitisssicher und sofort anwendbar, da eine Typisierung nicht erforderlich ist. SFH besitzt eine niedrige Eigenviskosität und dürfte in lyophilisiertem Zustand lange haltbar sein.
2. Im Gegensatz zu den klinisch gebräuchlichen Plasmaersatzmitteln kann SFH selbst Sauerstoff transportieren und bei einem Hämatokrit von 0 den Sauerstoffbedarf des Organismus für drei Stunden voll decken.
3. SFH kann plasmaisoton und mit physiologischen Elektrolytkonzentrationen hergestellt werden und ist nicht nephrotoxisch.
4. Verfallene Erythrozyten, die bislang verworfen werden müssen, könnten als Blutersatzmittel klinisch Anwendung finden.

Tabelle 10 Literaturübersicht über Versuche mit Blutersatz durch Hämoglobininlösungen nach hohen Blutverlusten  
(Auswahlkriterien: Hämatokrit nach Blutersatz 20 % oder  $\leq 20$  % oder hämorrhagische Hypotension von mindestens 90 min bei einem arteriellen Mitteldruck von 40 mmHg mit anschließendem Blutersatz)

| Autor                        | Herstellungsverfahren         | Hb-Quelle | Hb-Gehalt (g%) | Spezies                    | Versuchsmodell                                                                                                                                                                                                | Ergebnisse                                                                                                            |
|------------------------------|-------------------------------|-----------|----------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1934 AMBERSON et al.         | (1) nach Amberson             | Rind      | 13 - 14        | Kaninchen<br>Katze<br>Hund | Perfusion bei Hct = 0 mit stromahaltiger Hämoglobin-Ringer Lösung                                                                                                                                             | Überlebenszeit maximal 24 - 36 Stunden; Hämoglobinalagerungen in den glomerulären Kapillaren                          |
| 1947 HAMILTON et al.         | (48) nach Hamilton            | Hund      | 7              | Hund                       | isovolämischer Austausch von 50 ml/kg Blut gegen stromahaltige Hb-Lösung in 7 - 10 min                                                                                                                        | Hämoglobinkonzentration im Plasma 5 g%, nephrotoxische Nebenwirkungen                                                 |
| 1967 RABINER et al.          | (105) nach Rabiner            | Mensch    | 7              | Hund                       | isovolämischer Austausch von 20 - 47 ml/kg Blut in 2 - 3 min gegen stroma-freie Hb-Lösung innerhalb 4 - 24 min                                                                                                | keine nephrotoxischen Nebenwirkungen bei völlig stroma-freien Hämoglobininlösungen (SPH)                              |
| 1969 PESKIN et al.           | (101) nach Rabiner            | Mensch    | 7              | Hund                       | a) isovolämischer Austausch von 25 - 28 ml/kg Blut gegen SPH innerhalb 30 min<br>b) 20 - 47 ml/kg Blut isovol. gegen SPH<br>c) hämorrhagische Hypotension bis 40 mmHg über 3 Std.; dann Blutersatz mit SPH    | Nach vollständiger Entfernung der Erythrozytenmembran keine renalen Funktionseinschränkungen.                         |
| 1970 RABINER et al.          | (106) nach Rabiner            | Mensch    | 7              | Hund                       | Entblutung von 20 ml/kg, dann über 120 min isovol. Blutersatz bis Hct = 3 % mit SPH, dann über 180 min Infusion von 25 ml/kg Kochsalzlösung; am Ende des Versuchs Retransfusion von 20 ml/kg Blut             | Nach SPH-Infusion überlebten alle Tiere!<br>Histologie: Äußerst geringe Hb-Ablagerungen in Nierentubuli und (?) Leber |
| 1973 BRAASCH                 | (11) nach Braasch             | Schwein   | 10             | Hund                       | Substitution von Erythrozyten mit SPH bis Hct = 1 % innerhalb von 3 Std.                                                                                                                                      | keine Unverträglichkeit<br>keine Nierentoxizität                                                                      |
| 1973 SUNDER-PLASSMANN et al. | nach Bonhard (141)            | Mensch    | 6              | Hund                       | 20 ml/kg Blut isovolämisch gegen SPH bis Hct = 20 % (dilutierte Hämodilution) bzw. bis Hct = 7 % (extreme Hämodilution)                                                                                       | Hämoglobinkonzentration im Plasma bis 4,5 g%; bei Hct = 7 % starben alle Tiere                                        |
| 1974 UNSELD                  | (151) nach Bonhard            | Mensch    | 6              | Zwergschwein               | hämorrhagische Hypotension bis 40 mmHg über 3 Std; dann im Mittel 27,3 ml/kg SPH infundiert                                                                                                                   | Hämoglobinkonzentration im Plasma 2 g%; Überlebensrate 2 von 8 Tieren                                                 |
| 1974 FALANI et al.           | (99, 100) nach Moss           | Mensch    | 6 - 9          | Affe                       | isovol. Blutersatz durch SPH bis Hct = 0, dann arteriellen Mitteldruck über 3 Std. durch weitere Infusion von SPH im Bereich des Ausgangswertes gehalten                                                      | Mit Dextran behandelte Tiere starben bei Hct 2 - 5 %, mit SPH überlebten die Tiere 3 Std.                             |
| 1974 ELIA et al.             | (34) nach Rabiner             | Mensch    | 8              | Hund                       | hämorrhagische Hypotension bis 30 mmHg, dann isovolämischer Blutersatz mit SPH                                                                                                                                | Trotz Linksverschiebung der O <sub>2</sub> -Bindungskurve optischer O <sub>2</sub> -Verbrauch durch Mitochondrien     |
| 1975 KAPLAN und MURTHY       | (58) modifiziert nach Rabiner | Mensch    | 6,0 - 7,2      | Hund                       | hämorrhagische Hypotension bis 35 mmHg über 90 min und sofortiger isovol. Ersatz durch SPH bis Hct = 8,1 % bzw. $\leq 5$ %; Retransfusion von 10 ml/kg autologem Blut am Ende des Versuchs; Hct = 13 bzw. 9 % | Überlebensrate nach einer Woche: bei Hct = 8,1 % 2 von 4 Tieren<br>bei Hct $\leq 5$ % 0 von 5 Tieren                  |

d) Voraussetzungen für eine kurzzeitige klinische Anwendung von stromafreien Hämoglobinlösungen

Eine klinische Therapie mit SFH ist bis heute nicht vertretbar, da bei den experimentell getesteten, stromafreien Hämoglobinlösungen zwei gravierende Nachteile festgestellt wurden.

1. Die kurze intravasale Verweildauer,
2. die, - gegenüber dem intraerythrozytären Hämoglobin -, erhöhte Sauerstoffaffinität der Lösungen (54, 141, 144, 146).

Die intravasale Verweildauer stromafreier Hämoglobinlösung wird von zahlreichen Autoren lediglich an Hand der Elimination des freien Hämoglobins aus dem Plasma ermittelt. Die dabei bestimmte "intravasale Halbwertszeit" beträgt je nach Tierspezies 2 - 4 Stunden (7, 48, 151).

Zur Bestimmung der intravasalen Halbwertszeit müssen jedoch sowohl Änderungen der Konzentration des extraerythrozytären Hämoglobins als auch des zirkulierenden Blutvolumens gleichzeitig gemessen werden.

Untersuchungen über die Volumenwirksamkeit, die mit Hilfe von  $^{125}\text{J}$ -Hämoglobin und  $^{51}\text{Cr}$  markierten, autologen Erythrozyten am Hund durchgeführt wurden, ergaben eine intravasale Halbwertszeit von etwa 110 min nach einem Austausch von 20 ml/kg KG Blut gegen die gleiche Menge SFH (54, 143, 146). Der Volumeneffekt war unzureichend, denn das Blutvolumen fiel innerhalb von 240 min auf 70 - 75 % des Kontrollwertes ab; im Kreislauf konnten nach 240 min nur noch etwa 10 - 20 % der infundierten Hämoglobinlösung nachgewiesen werden (54, 146).

Diese niedrige Halbwertszeit beruht wahrscheinlich auf der reversiblen Dissoziation des tetrameren Hämoglobinmoleküls in zwei symmetrische Dimere mit einem Molekulargewicht von 32000. Diese Moleküle werden glomerulär filtriert (15).

Das bedeutet, daß infundiertes, extraerythrozytäres Hämoglobin wesentlich schneller in den Extravasalraum gelangt ist als zum Beispiel Albumin, dessen Molekulargewicht dem des Hämoglobins nahezu

identisch ist. Diese Ergebnisse werden durch Befunde von SUNDER-PLASSMANN et al. (146) erhärtet, die Hämoglobin bereits nach wenigen Minuten im Ductus Thoracicus und im Urin nachweisen konnten; 60 min nach Hb-Infusion war die Hämoglobinkonzentration in der Lymphe identisch mit der Plasmahämoglobinkonzentration (146). Dies zeigt, daß infolge transkapillären Hämoglobinabstroms eine Äquilibration erfolgt.

SZABO et al. (148) haben diese Befunde bestätigt und darüber hinaus nachgewiesen, daß die Verschwinderate des Lymphhämoglobins und des Plasmahämoglobins nach Äquilibration über den Zeitraum von 270 min einander völlig identisch war.

Durch die Permeation des Hämoglobins kommt es zu einer Erhöhung der onkotischen Aktivität im Interstitium, die möglicherweise eine Prädisposition für interstitielle Ödeme, speziell in der Lunge, darstellt (35, 55). Ein während oder auf Grund der Reanimation entstehendes Lungenödem würde jedoch, - gerade beim Schockpatienten -, den Therapieerfolg sehr in Frage stellen.

An Hand unseres präklinischen Versuchsmodells sollte deshalb geprüft werden, ob stromafreie Hämoglobinlösung als kurzwirkendes Blutersatzmittel ohne Gefahren am Patienten angewandt werden kann. Gleichzeitig sollte mit diesem Modell untersucht werden, inwieweit trotz erhöhter Sauerstoffaffinität von SFH eine ausreichende Sauerstoffgewebsversorgung sichergestellt ist.

## II. Hämodynamische Veränderungen im Tierversuch

### a) Verhalten des Herzzeitvolumens

Nach akutem, hohem Blutverlust ist der unverzügliche, adäquate Volumenersatz von entscheidender Bedeutung. Zweck jeder Volumentherapie ist die Wiederherstellung der Vitalfunktionen der Mikrozirkulation, nämlich der homogenen kapillären Durchblutung, der ausreichenden Gewebsoxygenierung und des transkapillären Abtransportes von Gewebsmetaboliten (139, 145).

Kolloidale Lösungen (z. B. Dextran 60) bewirken auf Grund der Herabsetzung des Hämatokrits eine überproportionale Senkung der relativen Blutviskosität (Quotient aus Vollblut- und Plasmaviskosität). In vivo führt eine akute normovolämische Hämodilution deshalb zur Erhöhung des venösen Rückstroms, zum Anstieg des Herzzeitvolumens und zur Steigerung der kapillären Durchströmung. Trotz reduziertem Sauerstoffgehalt im Vollblut sind bei limitierter, normovolämischer Hämodilution (bis Hämatokrit = 20 %) Perfusion und O<sub>2</sub>-Versorgung des Gewebes auf Grund der kompensatorischen Erhöhung des Herzzeitvolumens um etwa 70 % voll gewährleistet (64, 75, 76, 77, 78, 81, 135).

Durch isovolämischen Blutersatz durch SFH können initial die schockspezifischen makrohäodynamischen Veränderungen behoben werden (34, 41, 58, 101, 105, 106, 151, 152). Die Auswirkungen auf die Mikrozirkulation sind allerdings nur von kurzer Dauer, da das Herzzeitvolumen auf Grund der progredienten Hypovolämie und des verminderten venösen Rückstroms rasch abfällt und dadurch die Verminderung des Blutsauerstoffgehaltes nicht ausreichend kompensieren kann (54, 141, 142, 143). Nur bei hypervolämischem Austausch von Blut gegen SFH (20 ml/kg KG Blut gegen 10 ml/kg KG SFH bis Hämatokrit = 10 %) steigt das Herzzeitvolumen auf 80 % über den Ausgangswert an (140, 144). Trotzdem ist die Sauerstoffversorgung des Organismus nur für kurze Zeit ausreichend. Nach 60 min ist das Herzzeitvolumen deutlich unter den Kontrollwert abgefallen (140, 144).

Bei den eigenen Versuchen normalisiert sich unmittelbar nach Ende der Reanimationstherapie der arterielle Mitteldruck wieder auf seine Anfangswerte, die Herzfrequenz erhöht sich langsam, bleibt aber unter dem Ausgangswert und das Herzzeitvolumen ist, - wie spezielle Messungen ergaben -, nach 1 - 2 min auf Werte bis etwa 300 ml/kg min (170 % gegenüber der Kontrolle) angestiegen. 10 min nach Austauschende liegt das Herzzeitvolumen in beiden Gruppen trotz Absinken des Hämatokrits auf 11,4 bzw. 13,5 % jedoch nur noch um 25 % über dem Kontrollwert. Während in Gruppe A 60 min nach der Infusion von Dextran und Hämoglobin ein weiteres Ansteigen auf fast 35 % gegenüber der Kontrollmessung zu beobachten ist, fällt in Gruppe B zu

diesem Zeitpunkt das Herzzeitvolumen schon geringfügig ab. Trotz Reduktion der Viskosität durch Dextran 60 und stromafreies Hämoglobin (27, 141, 153) ist bereits nach relativ kurzer Zeit eine ausreichende Kompensation der verminderten Sauerstoffkapazität durch das Herzzeitvolumen nicht mehr gewährleistet. Ursache hierfür ist eine deutliche Hypovolämie, die am Absinken von rechtem Vorhofdruck und Herzzeitvolumen sowie am Anstieg des peripheren Gesamtwiderstandes zu erkennen ist. Mit der Infusion von Ringer-Laktat wird wieder Normovolämie hergestellt und das Herzzeitvolumen steigt in beiden Gruppen deutlich an. Die Erhöhung um etwa 85 % über den Ausgangswert in Gruppe A wurde auch für normovolämische Hämodilution mit Dextran 60 bei vergleichbaren Hämatokritwerten beschrieben, wobei die Kompensation der reduzierten Sauerstoffkapazität durch eine Erhöhung des Schlagvolumens den entscheidenden Mechanismus darstellt (64, 73, 75, 76, 78, 81, 95, 108, 112, 113, 135). Der Anstieg des Herzzeitvolumens in Gruppe B beim Hämatokrit von 15,1 % nach Hb-Substitution entspricht dem von GUMP et al. (46) beobachteten Anstieg bei vergleichbaren Graden von Hämodilution mit Ringer-Laktat. Um Normovolämie zu gewährleisten, muß Ringer-Laktat in großen Mengen verabreicht werden. Die zu infundierende Menge entspricht etwa dem 2,7- bis 4fachen der verlorenen Blutmenge (21, 44, 45, 46, 89, 116, 149). Dieser Faktor steigt umso mehr, je weiter der Hämatokrit abgefallen ist. MOSS (90) zeigte, daß die Infusionsrate mit fortschreitender hämorrhagischer Hypotension rapide bis zu einem Verhältnis von 17 : 1 gesteigert werden muß.

Die Herzfrequenz erreicht den Ausgangswert in Gruppe A erst etwa 120 min nach Austauschende, während sie in Gruppe B über die gesamte Versuchsdauer unter dem Ausgangswert bleibt. Die Steigerung des Herzzeitvolumens ist deshalb auf eine Zunahme des Schlagvolumens zurückzuführen. Die Schlagvolumina (Tabelle 11) liegen in beiden Gruppen während des gesamten Versuchs über den Ausgangswerten; zwischen beiden Gruppen bestehen keine signifikanten Unterschiede. Das unerwartet niedrige Herzzeitvolumen nach Blutersatz mit SFH könnte somit zumindest teilweise durch die Bradykardie erklärt werden. Da der reduzierte O<sub>2</sub>-Gehalt im Blut durch das Herzzeitvolumen nicht ausreichend kompensiert wird, fällt das Sauerstoffangebot gegenüber den Kontrollwerten um 40 - 50 % ab.

Tabelle 11 Verhalten des Schlagvolumens (ml/kg) vor und nach Blutaustausch mit 6 % stromafreier Hämoglobinlösung (Mittelwerte  $\pm$  SEM, n = 7 in Gruppe A und B)

|              |             | Zeit nach Austauschende (min) |                           |                           |                           |
|--------------|-------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Kontrollwert |             | 10                            | 60                        | 120                       | 240                       |
| Gruppe A     | 1,18 ± 0,09 | 1,91 ± 0,13 <sup>b)</sup>     | 1,70 ± 0,13 <sup>a)</sup> | 2,18 ± 0,19 <sup>c)</sup> | 2,07 ± 0,20 <sup>b)</sup> |
| Gruppe B     | 1,12 ± 0,09 | 1,98 ± 0,12 <sup>c)</sup>     | 1,52 ± 0,08 <sup>a)</sup> | 1,92 ± 0,16 <sup>b)</sup> | 1,57 ± 0,21               |

Signifikanz:

a)  $p < 0,01$

b)  $p < 0,005$

c)  $p < 0,001$

#### b) Verhalten und Funktion des pulmonalen Kreislaufs

Trotz erhöhter onkotischer Aktivität im Interstitium nach Primärtherapie mit stromafreier Hämoglobinlösung, - 120 min nach Austauschende sind etwa 0,7 - 0,8 g/kg KG Hämoglobin in den Extravasalraum gelangt -, wurde durch die nachfolgende massive Zufuhr von Ringer-Laktat in den vorgelegten Versuchen kein Lungenödem und kein interstitielles Ödem provoziert.

Im Lungenkreislauf beziehungsweise in den Lungenkapillaren fällt der Strömungswiderstand während unserer Versuche signifikant ab. Der starke Anstieg des Mitteldrucks in der a. pulmonalis, wie auch parallel dazu das Ansteigen des Lungenkapillarverschlußdrucks und des rechten Vorhofdruckes unmittelbar nach Reanimationstherapie resultiert aus einer vorübergehenden Rechtsherzüberlastung als Folge der raschen intravenösen Druckinfusion von Hämoglobin und Dextran 60. Die Rechtsherzüberlastung wurde bewußt in Kauf genommen, um die hypotone Phase möglichst kurz zu halten.

Allerdings ist besonders in Gruppe B gegen Ende der Versuche der

p CO<sub>2</sub> deutlich erhöht. Jedoch ist dabei die Narkose mit Methohexital-Natrium zu berücksichtigen, welche bei einzelnen Versuchstieren atemdepressiv wirkte und zu einer respiratorischen Azidose führte. Durch die reduzierte Spontanatmung wurde vermehrt CO<sub>2</sub> retiniert, so daß dieser Anstieg der p CO<sub>2</sub> durch eine ventilatorische Störung, nicht aber durch verminderte Diffusion zu erklären ist. Diffusionsstörungen beim Gasaustausch in der Lunge würden zunächst zur Hypoxämie führen, während sie erst relativ spät einen Anstieg des p CO<sub>2</sub> im Blut verursachen, da die Löslichkeit für CO<sub>2</sub> wesentlich höher als die für O<sub>2</sub> ist.

Bei der Entwicklung von infusionsbedingten, interstitiellen Lungenödemem werden die kollagenen Fasern des Interstitiums durch größere Mengen Ringer-Laktat auseinandergedrängt (36, 38, 71). Weitgehend frei bleibt jedoch die etwa 800 Å breite Diffusionszone über den Kapillaren; das Exsudat sammelt sich vor allem in den breiteren, zell- und fibrillenhaltigen perikapillären Bezirken des Interstitiums an (42, 71). Funktionell steht bei Lungenödemem daher nicht das Diffusionshindernis, sondern der Alveolenkollaps bei erhaltener Durchblutung, das heißt erhöhter pulmonaler Shunt mit arterieller Hypoxämie im Vordergrund (42, 51, 71, 118).

Bei unseren Versuchstieren geben die arteriellen PO<sub>2</sub>-Werte keinen Anhalt für das Bestehen einer Hypoxämie. Somit kommt es trotz großer Mengen Hämoglobin im Interstitium auch nach Infusion von 100 - 135 ml/kg KG Ringer-Laktat während unserer Versuche nicht zur Ausbildung von klinisch relevanten, interstitiellen Lungenödemem.

### III. Sauerstoffversorgung des Organismus nach Therapie mit stromafreien Hämoglobinlösungen

#### a) in vitro Charakteristika und Auswirkungen auf die Sauerstoffbindungskurve in vivo

Der Sauerstofftransport zu den Organen sollte nach akutem Blutverlust durch die Infusion von stromafreier Hämoglobinlösung nicht nur

durch das Erythrozytenhämoglobin aufrechterhalten werden, sondern das infundierte, extraerythrozytäre Hämoglobin muß selbst entscheidend zur Sauerstoffabgabe und damit zur Sauerstoffversorgung der Gewebe beitragen.

Voraussetzungen dafür sind

1. eine homogene Durchströmung des Kapillargebietes (84, 121, 156), wobei Höhe und Verteilung der nutritiven Kapillardurchblutung vom strömungswirksamen Druckgradienten, der neurohumoralen Regulation der Endstrombahn und durch die rheologischen Eigenschaften des Blutes bestimmt werden (82, 84, 156);
2. ein ausreichendes Gesamtsauerstoffangebot an die Peripherie.

Die Sauerstoffabgabe aus intra- und extraerythrozytärem Hämoglobin erfolgt durch Diffusion auf Grund des Druckgradienten zwischen Kapillaren und Gewebe. Die Freisetzung des Sauerstoffs ist sowohl vom  $O_2$  - Partialdruck im Gewebe als auch von der  $O_2$  - Affinität des Hämoglobins abhängig.

Die angewandte 6 %ige stromafreie Hämoglobinlösung bindet zwar *in vitro* 1,24 - 1,35 ml Sauerstoff/g Hämoglobin, jedoch ist die Sauerstoffbindungskurve bei einem  $P_{50}$  von etwa 13,5 mmHg gegenüber Vollblut ( $P_{50}$  = 27 mmHg) deutlich nach links verschoben.

Diese hohe Sauerstoffaffinität begünstigt *in vivo* geringfügig die Oxygenation von Hämoglobin in der Lunge (31, 97). In Übereinstimmung mit SUNDER-PLASSMANN et al. (146) konnte gezeigt werden, daß die Sauerstoffbindungszahl des extraerythrozytären Hämoglobins 10 und 60 min nach Reanimation zwischen 1,18 und 1,23 lag. Sie war damit nur wenig unter der  $O_2$ -Bindungszahl des Erythrozytenhämoglobins (1,34 - 1,39 ml  $O_2$ /gHb).

Die Sauerstoffbindungskurve für Vollblut war bei unseren Versuchen nach Infusion von Dextran 60 und Hämoglobin in beiden Gruppen signifikant nach links verschoben. Diese Erhöhung der Sauerstoffaffinität ist bedingt durch die hohe Affinität des extraerythrozytären Hämoglobins. Nach Untersuchungen von SUNDER-PLASSMANN et al. (146) wies die Sauerstoffbindungskurve für Plasma-hämoglobin unmittelbar nach isovolämischem

Blutersatz durch 20 ml/kg KG 6 %iger stromafreier Hämoglobinlösung eine signifikante Linksverschiebung gegenüber der Sauerstoffbindungskurve für Vollblut auf. Dadurch ist die Sauerstoffabgabe aus dem extraerythrozytären Hämoglobin ans Gewebe erheblich erschwert. Die Sauerstoffbindungskurve für V o l l b l u t zeigte jedoch unter diesen Bedingungen nur eine geringe und kurzzeitige Linksverlagerung, wobei nach 240 min die Kontrollwerte wieder erreicht waren (54, 146). Erst wenn, - wie auch bei den vorliegenden Versuchen -, die Gesamthämoglobinkonzentration um etwa 50 % abgesunken war, verlagerte sich auch die O<sub>2</sub>-Bindungskurve für Vollblut deutlich nach links. Mit ansteigendem Hämoglobingehalt im Plasma nach Infusion von stromafreier Hämoglobinlösung verschiebt sich die Sauerstoffbindungskurve nach links; gleichzeitig fällt auch die 2,3-DPG-Konzentration im Vollblut stark ab. Dabei besteht nach Befunden von SUNDER-PLASSMANN et al. zwischen dem Absinken von Sauerstoffhalbsättigungsdruck und 2,3-DPG-Gehalt eine direkte lineare Korrelation (144). Eine Abnahme der 2,3-DPG-Konzentration bewirkt ebenfalls ein Ansteigen der Sauerstoffaffinität für Hämoglobin, ausgedrückt durch eine Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve. Zudem wird das unmittelbar nach Infusion von Hämoglobin in der Zirkulation vorhandene e x t r a e r y t h r o z y t ä r e 2,3-DPG rasch über die Niere ausgeschieden (146) und kann sich daher auf die Sauerstoffbindungskurve nicht auswirken (eigene Messungen ergaben, daß die 2,3-DPG-Konzentration im Vollblut in Gruppe B 2 min nach Reanimation auf  $16,5 \pm 1,1 \mu\text{Mol/gHb}$ , 5 min nach Austausch auf  $14,2 \pm 1,0 \mu\text{Mol/gHb}$  und nach 10 min auf  $13,6 \pm 1,5 \mu\text{Mol/gHb}$  abgefallen war).

In beiden Versuchsserien steigt die 2,3-DPG-Konzentration im V o l l b l u t innerhalb von 240 min wieder deutlich an. Dabei läuft in den Erythrozyten eine erhöhte 2,3-DPG-Synthese aus 1,3-DPG über den RAPOPORT-LÜBERING-Umweg unter Verzicht auf die Gewinnung von energiereichem ATP ab (6, 23, 32). Das Ansteigen der 2,3-DPG Konzentration im Vollblut nach Austausch, - durch die beschleunigte Neubildung von 2,3-DPG in den Erythrozyten -, kann sich auf eine Verbesserung der Sauerstoffabgabe jedoch nur gering auswirken. 240 min nach Reanimation ist der P<sub>50</sub> in beiden Versuchsgruppen noch immer signifikant gegenüber dem Anfangswert erniedrigt. Die Sauerstoffaffinität ist somit über die gesamte Versuchsdauer

erhöht, die Abgabe von Sauerstoff durch das in der Zirkulation vorhandene Hämoglobin erschwert.

Demnach wird der Sauerstoffverbrauch des Organismus unter unseren Versuchsbedingungen durch den kompensatorischen Anstieg des Herzzeitvolumens und durch eine erhöhte Sauerstoffextraktion aufrechterhalten. Der zentralvenöse  $pO_2$  sinkt dabei auf etwa 35 mmHg ab.

#### b) Verhalten der Mikrozirkulation

Die Effektivität der Primärtherapie mit Hämoglobin und Dextran 60 kann durch die Bestimmung der zentralhämodynamischen Parameter allein nicht beurteilt werden. Entscheidend ist die Kontrolle der lokalen Sauerstoffversorgung im Gewebe. Als geeignetste Methode bietet sich hierfür die Messung der lokalen Sauerstoffpartialdrucke an. Sie wurde in den vorliegenden Versuchen aus zwei Gründen am Skelettmuskel (m. sartorius) vorgenommen:

1. leichte Zugänglichkeit und einfache Präparation,
2. die Skelettmuskulatur läßt Veränderungen der lokalen  $O_2$ -Versorgung bereits in der Frühphase des hämorrhagischen Schocks zuverlässig erkennen (124, 133).

Bei der Analyse der Kontrollwerte in Gruppe B liegen etwa 40 % im hypoxischen Bereich, was sich möglicherweise durch die langdauernde Narkose und das operative Vorgehen erklären läßt (82). Der Mittelwert unserer Kontrollmessung stimmt jedoch mit Angaben aus der Literatur über den Skelettmuskel- $PO_2$  des narkotisierten Hundes überein (78, 82, 140). Dagegen ist der Mittelwert bei Messungen am völlig ruhigen und entspannten Skelettmuskel des Menschen (m. tibialis anterior) signifikant höher (66, 67) (Mittelwert = 36,8 mmHg). Bei unseren Versuchen war während der kurzfristigen hämorrhagischen Hypotension eine deutliche Linksverschiebung des Histogramms zu erkennen.

Im Skelettmuskel kann jedoch nach Blutverlust bereits bei einem systolischen Druck von etwa 60 mmHg der Sauerstoffpartialdruck auf 0 mmHg absinken (132). Mit Xenon-133-Eliminationskurven wurde durch

direkte Messung der lokalen Rest-Aktivität gezeigt, daß bei einem arteriellen Mitteldruck von 60 - 70 mmHg die Durchblutung des Muskels innerhalb von 2 - 3 Minuten sistiert, obwohl das Herzzeitvolumen erst auf etwa 20 - 30 % des Kontrollwertes abgefallen war (138).

Im Gegensatz dazu werden in der Leber (durch Messung der lokalen Sauerstoffdrucke auf der Oberfläche des Organs) bereits nach geringem Blutverlust anoxische Bereiche nachgewiesen, während im Duodenum erst in der Spätphase des hämorrhagischen Schocks eine massive Gewebehypoxie auftritt. In der Nierenrinde ist der  $pO_2$  bei langsamem Blutverlust lange Zeit nahezu unverändert. Wenn der arterielle Mitteldruck jedoch unter 60 mmHg abfällt, sistieren glomeruläre Filtration, Natriumreabsorption und Urinausscheidung. Im Pankreas sinkt der Sauerstoffpartialdruck unter diesen Bedingungen auf 0 mmHg ab (132).

Die Sauerstoffversorgung dieser Organe und des Skelettmuskels konnte durch Infusion von Dextran 60 wieder weitgehend normalisiert werden (132).

60 min nach Reanimation und Volumensubstitution mit H ä m o g l o - b i n u n d D e x t r a n 60 hat bei unseren Versuchen die Zahl hypoxischer  $pO_2$ -Werte ebenfalls stark abgenommen. Obwohl zu diesem Zeitpunkt in Gruppe B an Hand von RAP, peripherem Gesamtwiderstand und Herzzeitvolumen eine Hypovolämie nachgewiesen ist, ist die Sauerstoffversorgung des Skelettmuskels gegenüber der hypotensiven Phase deutlich verbessert.

Nach Ringer-Laktat-Infusion verlagert sich das Histogramm 120 und 240 min nach Ende der Reanimationstherapie weiter nach rechts. Dies läßt darauf schließen, daß in der Skelettmuskulatur eine homogene Kapillardurchblutung und eine, - auch gegenüber den Anfangswerten -, wesentlich verbesserte Sauerstoffversorgung vorliegt. Die Häufigkeitsverteilung der lokalen  $O_2$ -Drucke am Ende unserer Versuche entspricht den von MESSMER et al. (77, 78) erstellten Histogrammen nach normovolämischer Hämodilution mit Dextran 60 am Hund bei vergleichbaren Hämatokritwerten.

SUNDER-PLASSMANN et al. (140, 144) zeigten, daß auch unmittelbar

nach Hämodilution mit stromafreier Hämoglobinlösung (20 ml/kg KG SFH gegen 10 ml/kg KG Blut bis Hct = 10 % ausgetauscht) der GewebepO<sub>2</sub> in Leber, Pankreas, Dünndarm und Niere im Bereich der Kontrollwerte liegt.

Auf Grund der kurzen intravasalen Verweildauer verschlechtert sich jedoch ohne zusätzliche Infusion die Sauerstoffversorgung dieser Organe innerhalb von 60 min proportional zum Absinken des Herzzeitvolumens.

Zusätzlich wurden bei vier Versuchstieren der Gruppe B insgesamt 12 pO<sub>2</sub>-Meßwerte kontinuierlich, ohne Änderung der Elektrodenposition, während der Entblutungs- und Infusionstherapie registriert. 60 und 240 min nach Austausch waren diese Meßpunkte aus technischen Gründen (Eichung, erneutes Aufsetzen und damit Lageveränderung der Elektrode) nicht mehr mit den Punkten während der Anfangsphase des Versuchs identisch.

Während der arteriellen Entblutung zeigen die initial höchsten Sauerstoffpartialdrucke den steilsten Abfall, die niedrigen O<sub>2</sub>-Drucke nehmen dagegen nur gering ab (Mittelwerte C =  $17,0 \pm 3,0$  mmHg, nach Blutverlust  $3,2 \pm 0,7$  mmHg) (Abb. 12).

Ein ähnliches Phänomen beobachteten KESSLER et al. (61, 62, 63) bei Messungen an der Hundeleber. Sie reduzierten den Sauerstoffgehalt des inspiratorischen Gasgemisches von 25 % auf 10 %. Die initial hohen pO<sub>2</sub>-Werte fielen steiler ab als die niedrigeren Ausgangswerte. Der Mechanismus dieser Umverteilung in der Mikrozirkulation ist noch unbekannt (63).

Abb. 12 läßt nach Reanimation insgesamt einen deutlichen Anstieg der Sauerstoffpartialdrucke erkennen, wobei zwischen der Erhöhung dieser Werte und der infundierten Menge Ringer-Laktat kein Zusammenhang besteht.

Die Gewebshistogramme und auch diese Analyse der Einzelwerte lassen erkennen, daß die Gewebeoxygenation des Skelettmuskels unter unseren Versuchsbedingungen bemerkenswert verbessert war. Als Ursache dieses Anstiegs der O<sub>2</sub>-Gewebedrucke sind eine dilutionsbedingte Mehr-

durchblutung mit vermehrtem Antransport von  $O_2$  (reaktive Hyperämie) und/oder eine erhöhte Sauerstoffextraktion aus dem in der Zirkulation vorhandenen Hämoglobin zu diskutieren.



Abb. 12 Verhalten der lokalen  $PO_2$ -Werte auf der Oberfläche des m. sartorius bei Entzug von 51,7 ml/kg KG Blut, nachfolgendem isovolämischem Blutersatz durch stromafreie Hämoglobinlösung und Dextran 60 im Verhältnis 4 : 1 und nach Ringer-Laktat Infusion über 180 min (C = Kontrollwerte, B = Blutentzug, RL = Ringer-Laktat Infusion; Kreise: Einzelwerte; Querstrich: arithmetischer Mittelwert)

Auf Grund der Gewebs- $PO_2$  Messungen kann jedoch nicht entschieden werden, ob sich der vom Plasmahämoglobin gebundene Sauerstoff an der Gewebeeröxygenierung beteiligt hat, und wie groß dessen Anteil an der Gesamtsauerstoffversorgung des Organismus war.

c) Sauerstofftransporteigenschaften von erythrozytärem und extra-erythrozytärem Hämoglobin

Trotz signifikant reduziertem Gesamtsauerstoffangebot bleibt bei unseren Versuchen die Sauerstoffaufnahme des Organismus konstant. Dabei sinkt der Anteil des extraerythrozytären Hämoglobins am Gesamtsauerstoffangebot in beiden Gruppen innerhalb von 240 min um etwa 50 % ab, was auf die kurze intravasale Verweildauer des freien Hämoglobins im Plasma zurückzuführen ist.

Aus dem beobachteten Anstieg der  $AVDO_2$  (sat%) und dem Abfall des venösen  $pO_2$  im Vollblut kann jedoch nicht gefolgert werden, daß stromafreies Hämoglobin selbst zur Gewebeoxygenierung beigetragen hat. Erst durch die g e t r e n n t e B e s t i m m u n g der arterio-venösen  $O_2$ -Gehaltsdifferenz sowohl im V o l l b l u t als auch im P l a s m a wird eine Aussage über die  $O_2$ -Abgabe aus extraerythrozytärem Hämoglobin möglich.

RABINER et al. (106) konnten nach Infusion von stromafreier Hämoglobinlösung nicht nur eine dem Erythrozytenhämoglobin vergleichbare Sauerstofftransportkapazität ( $Hb \times HZV \times 1,34 \text{ ml } O_2 / \text{g Hb}$ ) nachweisen, sondern sie zeigten auch an drei Tieren, daß bei einem Hämatokrit von 3 % die Sauerstoffextraktion aus dem Plasmahämoglobin auf 36,1 - 80,6 % angestiegen und dreifach höher als die  $O_2$ -Extraktion aus dem verbliebenen Erythrozytenhämoglobin war.

PALANI et al. (99, 100) konnten an Hand des bereits erwähnten Modells zeigen, daß der Sauerstoffverbrauch nach Infusion von stromafreier Hämoglobinlösung selbst bei  $Hct = 0$  konstant blieb, während Reduktion des  $Hct$  auf 2 - 5 % durch Dextran 75 zu plötzlichem Absinken der  $O_2$ -Aufnahme und Exitus aller neun Versuchstiere führte. Sie hielten ihre  $O_2$ -Aufnahme nicht durch Steigerung des  $HZV$ , sondern durch eine um 50 % erhöhte  $O_2$ -Ausschöpfung aus SFH konstant. Der venöse  $pO_2$  sank dabei als Ausdruck der signifikanten Zunahme der  $O_2$ -Extraktion von 52,0 auf 17,4 mmHg ab.

Diese Ergebnisse, - gewonnen unter extremsten Versuchsbedingungen, d. h. bei vollständigem Erythrozytenverlust -, sind auf die klinische Therapie des hämorrhagischen Schocks nicht übertragbar, da beim Patienten bereits nach Verlust von 30 - 50 % seines Blutvolu-

mens ein schwerer, möglicherweise deletärer Schockzustand besteht (43, 74).

Bereits im frühen Schockstadium, wenn der Blutdruck in den großen Arterien noch annähernd normal ist, kommt es auf Grund der sympathikoadrenergen Reaktion zur Minderdurchblutung in der Endstrombahn. Bei länger bestehendem, schweren Schockzustand mit hohem Blutverlust erhöht sich durch die reduzierte Strömungsgeschwindigkeit der visköse Fließwiderstand des Blutes in der Mikrozirkulation, vermindert sich die Gesamtzahl perfundierter Kapillaren und die Durchblutung in der Endstrombahn wird zunehmend inhomogen. Proportional zur Reduktion der peripheren Durchblutung sinkt auch das  $O_2$ -Angebot an das Gewebe ab, so daß besonders in den Splanchnikusorganen, Niere und Skelettmuskulatur eine schwere und ausgedehnte Gewebeshypoxie besteht (84, 132).

Gerade in diesem Stadium sollte stromafreies Hämoglobin, - neben der Wiederherstellung des Blutvolumens und der Normalisierung der Gewebedurchblutung -, selbst zur Gewebeoxygenierung beitragen können.

Nach wiederholtem, isovolömischem Blutersatz durch 10 ml/kg stromafreie Hämoglobinlösung beobachteten KAPLAN und MURTHY (58) bei einem Hämatokrit von 17 % erst dann einen deutlichen Anstieg der Sauerstoffextraktion aus dem extraerythrozytären Hämoglobin, wenn aus dem Erythrozytenhämoglobin mehr als 50 %  $O_2$  extrahiert waren. Dabei ist unbekannt, ob der im Plasma physikalisch gelöste Sauerstoff in dieser Extraktionsrate mitenthalten ist.

Bei den eigenen Versuchen wurden in Gruppe A etwa 25 ml/kg KG, in Gruppe B über 40 ml/kg KG Hämoglobinlösung infundiert. Die  $O_2$ -Extraktion aus Plasmahämoglobin weist jedoch zwischen beiden Gruppen nur geringe Unterschiede auf.

In Übereinstimmung mit KAPLAN und MURTHY zeigt sich, daß der vom Plasmahämoglobin gebundene Sauerstoff erst dann extrahiert wird, wenn das Erythrozytenhämoglobin zu 40 - 50 % desoxygeniert ist. Unter den gewählten Versuchsbedingungen wurde somit der Sauerstoffbedarf überwiegend aus dem Hämoglobin der verbleibenden Erythrozyten gedeckt.

Der vom Plasmahämoglobin gebundene Sauerstoff kann auf Grund der hohen Affinität nur in Organe mit hoher Extraktionsrate wie dem Myokard von etwa 75 % oder bei extremster Anämie abgegeben werden, d. h. stromafreie Hämoglobininlösung trägt, - selbst nach massivem Blutverlust -, kaum zur O<sub>2</sub>-Versorgung bei, da die O<sub>2</sub>-Abgabe ans Gewebe auf Grund der hohen Affinität nur bei starker Senkung des Gewebs-pO<sub>2</sub> möglich ist.

Somit zeigen diese Untersuchungen, daß konventionelle stromafreie Hämoglobininlösungen weder für kurz- noch für langfristigen Blutersatz klinisch geeignet sind.

Als Ursache für die geringe O<sub>2</sub>-Extraktion aus Plasmahämoglobin muß eine Methämoglobinbildung während der Präparation, Lagerung oder nach Infusion der Lösungen ausgeschlossen werden. Methämoglobin ist nicht in der Lage, Sauerstoff reversibel zu binden und zum Gewebe zu transportieren.

Der Methämoglobingehalt von stromafreier Hämoglobininlösung wird in der Literatur übereinstimmend mit 0,6 - 4,0 % der Gesamthämoglobinkonzentration angegeben (18, 47, 48, 91, 92). Dieser Angabe entspricht auch die Methämoglobinkonzentration der bei den eigenen Versuchen verwendeten Lösungen (Tabelle 1).

RABINER fand in stromafreien Hämoglobininlösungen über acht Monate lang keine Methämoglobinbildung, wenn die Präparate bei 5° C gelagert wurden (107).

In vivo wurde eine massive Methämoglobinämie nach Infusion von Rinderhämoglobininlösungen von AMBERSON et al. (1) beschrieben. Sie bestimmten bei Hct = 0 die Hämoglobin- und Methämoglobinkonzentration in Abhängigkeit von der Zeit während der Perfusion mit 13 - 14 %iger Hämoglobininlösung. Zum Zeitpunkt des Todes waren 50 % des zirkulierenden Hämoglobins bei diesen Tieren zu Methämoglobin umgewandelt. Dagegen beschrieb HAMILTON (48) bei Hunden nach Infusion von Hundehämoglobin eine Umwandlung von nur 3 - 4 % des gesamten infundierten Hämoglobins zu Methämoglobin.

Nach DARLING und ROUGHTON (29) wird vom Organismus des gesunden Menschen ein Methämoglobinanteil von 20 - 30 % des normalen Gesamthämoglobins und damit eine erheblich geringere Sauerstofftransportkapazität toleriert. Erst eine höhere Methämoglobinbildung würde zu Gewebeanoxie, unabhängig von einem möglichen toxischen Effekt des Methämoglobin produzierenden Agens auf das Gewebe, führen. Andererseits analysierte AMBERSON (2) den Methämoglobingehalt bei zwei Patienten nach Infusion von 550 ml 11 %iger Humanhämoglobinlösung und beobachtete keinerlei Bildung von Methämoglobin.

Im Urin wiesen RELIHAN und LITWIN (111) nach Infusion von 250 ml 6 %iger Hämoglobinlösung bei chronisch azidotischen Hunden einen Methämoglobinanteil von 20 - 30 % des gesamten ausgeschiedenen Hämoglobins nach. Die Ursache ist in einem Absinken des Urin-pH bei gleichzeitiger Hämoglobinurie zu sehen, wobei metabolische Azidose und saurer Urin nach Hämoglobinämie und Hämoglobinurie auch für renale Schäden verantwortlich sein könnten (111). Bei diesen Versuchen waren jedoch weder renale Funktionseinschränkungen noch pathologische Veränderungen der Nierenstruktur beobachtet worden.

Ob allerdings für unsere Versuchstiere eine derart hohe Methämoglobinbildung ohne letale Folgen geblieben wäre, wurde nicht weiter abgeklärt. Die Sauerstoffkapazität und die Sauerstoffbindungszahl des Plasmas lassen aber darauf schließen, daß 10 und 60 min nach Infusion des Hämoglobins keine massive Methämoglobinämie aufgetreten ist. JESCH et al. (57) zeigten bei neueren Versuchen am gleichen Versuchsmodell, daß der Methämoglobingehalt im Plasma unmittelbar nach Infusion etwa 4 % des Plasmahämoglobins betrug. 240 min nach Austausch war dieser Anteil auf 6 % des Plasmahämoglobins angestiegen.

Somit ist für die geringe Sauerstoffabgabe aus dem extraerythrozytären Hämoglobin die hohe Affinität der Lösungen, nicht aber eine massive Bildung von Methämoglobin aus dem Plasmahämoglobin verantwortlich.

#### IV. Auswirkungen auf die Organfunktion von Leber und Niere

Während der gesamten Beobachtungsperiode ergeben sich bei unseren Versuchstieren auf Grund der gemessenen Parameter keine Hinweise auf Funktionseinschränkungen der Leber und Niere. Dies stimmt mit den Ergebnissen aus der Literatur überein (7, 101, 105, 106, 107, 110, 111, 150, 151).

Das infundierte Hämoglobin wird aus dem Plasma eliminiert:

1. durch Filtration in der Niere und Ausscheidung im Urin,
2. durch Bindung an  $\alpha$ -Globuline, wobei ein Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex gebildet wird,
3. durch Metabolismus in der Leber und im RES.

Das Plasmahämoglobin bildet nach Infusion einen irreversiblen Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex, der wegen seiner Größe nicht durch die Glomeruli filtriert werden kann und vom RES absorbiert wird. Wenn die Bindungskapazität dieses Plasmaproteins ausgeschöpft und ein Maximalwert, - LATHEM (68, 69) gibt ihn mit einem Mittelwert von 128 mg% Plasmahämoglobinkonzentration an -, überschritten ist, wird ungebundenes Hämoglobin im Plasma renal ausgeschieden. Dabei kommt es zur reversiblen Dissoziation der tetrameren Struktur des Hämoglobins in zwei symmetrische Dimere ( $\alpha_2\beta_2 \rightleftharpoons 2\alpha\beta$ ). Diese Moleküle werden glomerulär filtriert (15). Für eine reversible Dissoziation der tetrameren Struktur sprechen auch die Befunde von SUNDER-PLASS-MANN et al. (146) wonach zwischen der  $O_2$ -Kapazität von stromafreiem Hämoglobin einerseits und Hämoglobin in Urin und Lymphe andererseits keine Unterschiede bestehen.

Die Dissoziation in Dimere wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Sie wird durch Dilution gesteigert (15), andererseits differieren aber die Hämoglobinmoleküle verschiedener Tierspezies unter physiologischen Bedingungen sehr stark bei der Bildung der dimeren Struktur (25). Das durch die Glomeruli filtrierte Hämoglobin wird in den Zellen des proximalen Tubulus absorbiert (16). Dabei wird das Hämoglobineisen sehr schnell aus dem umgebenden Porphyrinring herausgelöst und in den Zellen als Ferritin abgelagert.

gert. Das Globin wird wahrscheinlich unter dem Einfluß der cytoplasmatischen Lysosomen katabolisiert. Bei Überschreiten der Absorptionskapazität der Zellen im proximalen Tubulus zeigt sich freies Hämoglobin im Urin und es entwickelt sich eine Hämoglobinurie. Unter diesen Bedingungen erscheint auch das vorübergehend in den Zellen abgelagerte Eisen letztlich im Urin. Es wird aber erheblich langsamer ausgeschieden (Halbwertszeit 37 Tage, Hämosiderinablagerungen in der Niere, siehe Kapitel V.) als das nicht absorbierbare Hämoglobin (16), das im Urin bereits wenige Minuten nach Infusion nachgewiesen werden kann (146). Insgesamt werden etwa 30 - 40 % des verabreichten Hämoglobins innerhalb von 240 min ausgeschieden (7, 48, 68, 69, 109, 110, 111, 117, 146).

Das im Urin nachgewiesene Hämoglobin ist dabei zum Plasmahämoglobin elektrophoretisch nicht verschieden. Der Urin enthält freies ungebundenes, aber kein proteingebundenes Hämoglobin (68, 69). Wenn das Hämoglobin vollständig "abgesättigt" ist, werden im Durchschnitt 1,23 mg Hämoglobin pro Minute ausgeschieden. Bis zum 13fachen des Nierenschwellenwertes verhält sich dabei die Hämoglobinexcretion im Urin proportional zur Hämoglobinkonzentration im Plasma (88). Andererseits ist die renale Clearance bei geringen Plasmahämoglobinkonzentrationen größer als bei hohen Konzentrationen. Sie erreicht bei einer Plasmahämoglobinkonzentration von ungefähr 250 - 400 mg% einen Maximalwert von 4 mg/min (12). Die Steigerungsrate der Hämoglobinausscheidung nimmt dann mit zunehmender Plasmahämoglobinkonzentration ab (16, 88). Dies könnte den unterschiedlichen Plasmahämoglobineliminationsverlauf zwischen beiden Gruppen bei unseren Versuchen erklären, denn die Ausscheidung des infundierten Hämoglobins aus dem Plasma war in Gruppe B langsamer.

Das im Körper der Tiere verbliebene SFH lagert sich vorübergehend zumindest teilweise im Gewebe ab und wird später aus dem Organismus vollständig eliminiert (1, 3, 48, 88, 91, 94, 100, 101, 105). Bei unseren Versuchen zeigen sich, - wie auch von anderen Autoren beschrieben (1, 91, 100, 151) -, purpurrote Verfärbungen der Wundränder. Diese Veränderungen, die auf subcutane Hämoglobinextravasationen schließen lassen, konnten allerdings am Morgen des nächsten Tages, etwa 18 Stunden nach Versuchsende, nicht mehr beobachtet werden.

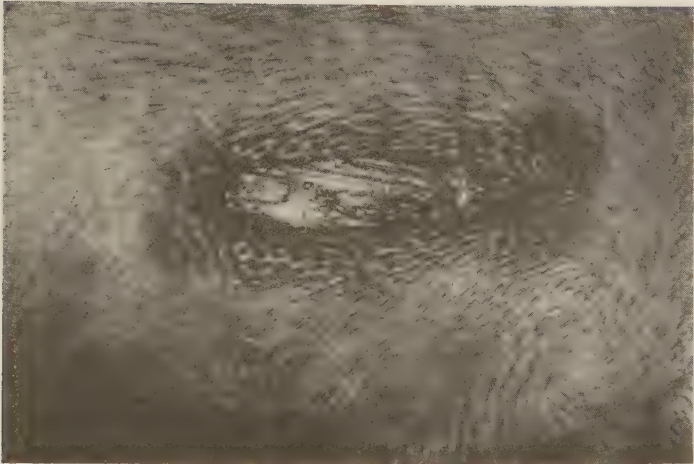


Abb. 13 Versuchstier vom 17. 4. 75 (aus Gruppe B), Präparationsstelle des m. sartorius 240 min nach Austauschende, dunkelrote Verfärbungen der Wundränder im Bereich der Subcutis

OSTROW (98) konnte zeigen, daß Hämoglobin fast vollständig zu Bilirubin abgebaut wurde, solange die Bindungskapazität des Haptoglobins nicht erreicht ist. Seine Untersuchungen ließen erkennen, daß der Organismus eine hohe Aufnahmefähigkeit zur Umwandlung von Hämoglobin zu Bilirubin besitzt. VAN DER STOCK und DE SCHEPPER (155) wiesen nach, daß nur etwa 1,6 % des im Plasma gebundenen Bilirubins durch die Glomeruli filtriert werden. Die Ausscheidung von Bilirubin im Urin war jedoch wesentlich höher als auf Grund der filtrierten Menge zu erwarten gewesen wäre.

Ob glomeruläre Filtration oder tubuläre Rückresorption, der Sekretionsmechanismus, oder eine erhöhte Anreicherung des Filtrats dafür verantwortlich sind, konnte nicht geklärt werden. Möglicherweise liegt hier ein Hilfsmechanismus des Organismus zu Grunde, durch den hohe Konzentrationen gebundenen Hämoglobins rasch in Bilirubin umgewandelt und dann unverzüglich im Urin ausgeschieden werden.

## V. Pathologisch-morphologische Veränderungen

An Hand der mikroskopischen Befunde von Myokard, Lunge, Leber und Niere ergeben sich keinerlei Anzeichen einer morphologisch manifesten Toxizität stromafreier Hämoglobinlösungen beim Hund. Dies entspricht Angaben aus der Literatur, wobei hier bis zu 3,3 g/kg KG Hämoglobin verabreicht wurden (105, 106, 107, 109, 110, 111).

BURCK (18) beschreibt dagegen nach Infusion stromafreier Hämoglobinlösungen beim Kaninchen Symptome des akuten Nierenversagens. Er verabreichte ohne vorherige Entblutung 1,8 g/kg KG Hämoglobin und fand Chromoproteidzyylinder in Außenzone und Papille der Niere, ausgedehnte hypoxische Vakuolen in allen Abschnitten der Nephren, sowie Tubulusnekrosen, die bis zum Vollbild der totalen Nierenrindennekrose reichten. Er zeigte ferner, daß das Erythrozytenstroma beim Kaninchen im Rahmen der Pathogenese des akuten Nierenversagens nach hypervolämischer Hämoglobininfusion keine Rolle spielt.

Bei diesen Versuchen sind jedoch speziesspezifische Eigenheiten nicht auszuschließen, denn von anderen Spezies (Affe, Hund, Zwergschwein) wird Humanhämoglobin gut toleriert (Dosierung: beim Hund bis 3,3 g/kg KG; beim Zwergschwein bis 1,6 g/kg KG Hämoglobin).

Bei Volumenersatz durch stromafreie Hämoglobinlösung nach Hypovolämie wurden bei diesen Tierspezies keine pathologischen Nierenveränderungen beobachtet.

BIRNDORF (7) konnte zeigen, daß stromafreie Humanhämoglobinlösungen von Affen ohne pathologische, renale Veränderungen vertragen werden. Nachdem 25 % des Blutvolumens innerhalb von 5 min entzogen waren, erfolgte ein isovolämischer Blutersatz durch Infusion von 6,9 - 7,3 % stromafreier Hämoglobinlösung. Dabei wurden etwa 1,2 g/kg KG Hämoglobin verabreicht. Lichtmikroskopisch zeigten sich bei Hämatoxilin/Eosin-Färbung keinerlei Anzeichen glomerulärer oder tubulärer Schädigungen. Lediglich nach 48stündiger Dehydration waren vereinzelt tubuläre Hämoglobinablagerungen zu sehen. Somit können pathologische Veränderungen der Nierenstruktur auch bei Primaten durch vollständige Beseitigung der Erythrozytenmembran bei Herstellung

der Lösungen verhindert werden.

Nach extrakorporaler Ganzkörperperfusion mit Hämoglobinlösungen bei einem Hämatokrit = 0 und hypothermer Perfusion bei einem Hämatokrit = 11 % werden ferner in der Literatur vereinzelt pulmonale hämorrhagische Ödeme beschrieben (1, 50, 93). Andererseits wies LOWENSTEIN et al. (70) nach, daß extreme Hämodilution ( $Hct < 10\%$ ) mit Ringer-Laktat zu signifikanter Wasseransammlung sowohl im Herzen als auch in der Lunge führt. Dabei sank der onkotische Druck von 23,3 auf 3,8 mmHg ab. Während unserer Versuche erreichte der kolloid-osmotische Druck bei keinem der Tiere die von LUNDGAARD-HANSEN (71) angegebenen kritischen Werte (ca. 20 mmHg); hierdurch läßt sich erklären, warum während der Versuche keine klinisch relevanten interstitiellen bzw. alveolären Ödeme aufgetreten sind. Darüber hinaus ließen die lichtmikroskopischen Befunde selbst bei den vorzeitig verstorbenen Tieren keine massiven ödematösen Veränderungen der Lunge trotz massiver Belastung mit Ringer-Laktat erkennen.

Die Megakaryozytenvermehrung in der Lunge wird auch in der Humanpathologie nach hypovolämischem oder septischem Schock beschrieben.

Im Bürstensaum des proximalen Tubulus und in der Leber wurden gering- bis mittelgradige Hämosiderinablagerungen nachgewiesen. Zeichen einer extremen hypoxischen Leber- oder Nierenparenchymschädigung zeigen unsere Versuchstiere dagegen nicht.

Bei von FÖRSTER und HOSS (37) durchgeführten Versuchen am isoliert perfundierten Rattendarm konnten keine Veränderungen der Fähigkeit des Darms zum aktiven Transport nach vaskulärer Perfusion von stromafreier Human- bzw. Rinderhämoglobinlösung festgestellt werden. Das histologische Bild des perfundierten Darms war ohne pathologischen Befund; es konnte kein extravasales Hämoglobin nachgewiesen werden. Auch ein Übertritt von Hämoglobin ins Darmlumen während des dreistündigen Versuchs wurde nicht festgestellt.

Auf Grund dieser histologischen Ergebnisse könnten völlig stromafreie Hämoglobinlösungen klinisch angewandt werden, ohne irreversible pathologische Organveränderungen befürchten zu müssen.

## E. ZUSAMMENFASSUNG

1. An Hand der vorliegenden Versuche sollte die therapeutische Wirksamkeit stromafreier Hämoglobinlösungen als kurzfristiges Blutersatzmittel geprüft werden. Zu diesem Zweck wurden in Einzelversuchen 14 splenektomierte Hunde arteriell entblutet, bis entweder Herzstillstand eintrat oder 2/3 des Blutvolumens entzogen waren. Die Reanimation erfolgte durch isovolämischen Volumenersatz mit 6 %iger stromafreier Hämoglobinlösung und Dextran 60 und gegebenenfalls durch äußere Herzmassage. 60 min später wurde der rechte Vorhofdruck durch Infusion von Ringer-Laktat-Lösung wieder auf den Anfangswert eingestellt und über 180 min durch Dauertropfinfusion auf diesem Wert konstant gehalten.
2. Es konnte gezeigt werden, daß Wiederbelebung und Volumenssubstitution nach massivem Blutverlust und Herzstillstand mit stromafreien Hämoglobinlösungen kurzfristig möglich ist. Trotz des transkapillären Abstroms von 1,0 - 1,1 g/kg Hämoglobin ins Interstitium innerhalb von 240 min werden auch bei Infusion von 100 - 135 ml/kg KG Ringer-Laktat keine Lungenödeme provoziert.
3. In Übereinstimmung mit Befunden aus der Literatur waren bei den vorliegenden Versuchen an Lunge, Myokard, Leber und Niere weder Funktionseinschränkungen noch pathologische Organveränderungen zu beobachten.
4. Die Sauerstoffversorgung des Organismus wird trotz Absinkens des arteriellen Sauerstoffgehalts auf etwa 40 % des Ausgangswertes durch einen Anstieg des Herzzeitvolumens und der Sauerstoffextraktion aufrechterhalten. Unter den gewählten Versuchsbedingungen wurde Sauerstoff vorwiegend von intraerythrozytärem Hämoglobin ans Gewebe abgegeben, während das infundierte extraerythrozytäre Hämoglobin nur wenig zur Sauerstoffversorgung beitrug.
5. Aus diesem Grund ist eine klinische Anwendung von stromafreien Hämoglobinlösungen, auch für kurzfristigen Blutersatz, erst dann sinnvoll, wenn es gelingt, die Sauerstoffaffinität von stromafreien Hämoglobinlösungen so zu reduzieren, daß eine Sauerstoffabgabe in vivo in größerem Umfang als bisher stattfindet.

F. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) AMBERSON, W. R., FLEXNER, J., STEGGERDA, F. R., MULDER, A. G.,  
TENDLER, M. J., PANKRATZ, D. S. and LANG, E. D.:  
On the use of Ringer-Locke solutions containing hemoglobin as  
a substitute of normal blood in mammals  
J. Cell. Compar. Physiol. 5, 539 (1934)
- (2) AMBERSON, W. R., JENNINGS, J. J. and RHODE, C. M.:  
Clinical experience with hemoglobin-saline solutions  
J. Appl. Physiol. 1, 469 (1949)
- (3) ANDERSEN, M. N., MOURITZEN, C. V. and GABRIELLI, E. R.:  
Mechanisms of plasma hemoglobin clearance after acute hemoly-  
sis in dogs:  
Serum haptoglobin levels and selective deposition in liver and  
kidney  
Ann. Surg. 164, 905 (1966)
- (4) BAKER, S. L. and DODDS, E. C.:  
Obstruction of renal tubules during the excretion of hemo-  
globin  
Brit. J. Exp. Path. 6, 247 (1925)
- (5) BARRAT, J. O. W. and YORKE, W.:  
The production of general symptoms in hemoglobinemia  
Brit. Med. J. 1, 235 (1914)
- (6) BENESCH, R. and BENESCH, R. E.:  
The effect of organic phosphates from the human erythrocyte  
on the allosteric properties of hemoglobin  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 26, 162 (1967)
- (7) BIRNDORF, N. J. and LOPAS, H.:  
Effects of red cell stroma-free hemoglobin solution on renal  
function in monkeys  
J. Appl. Physiol. 29, 573 (1970)

- (8) BONHARD, K.:  
Preparation and examination of an infusable hemoglobin solution  
In: Martin, H. and Nowicki, L.: Synthesis, structure and  
function of hemoglobin  
Lehmann, München, 1972, p. 285
- (9) BONHARD, K.:  
Acute oxygen supply by infusion of hemoglobin solutions  
Fed. Proc. 34, 1466 (1975)
- (10) BONHARD, K.:  
Storage-stabile hemoglobin solutions and method for their  
preparation  
United States Patent 3, 864, 478 (1975)
- (11) BRAASCH, D.:  
Red cell free dogs  
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972, Part I,  
Bibl. Anat. 11, 125 (Karger, Basel 1972)
- (12) BRANDT, J. L., FRANK, N. R. and LICHTMAN, H.C.:  
The effects of hemoglobin solution on renal functions in man  
Blood 6, 1152 (1951)
- (13) BROENNLE, A. M., TUNG, C. K. and BUCHMAN, B.:  
Oxyhemoglobin dissociation following massive transfusion in  
man  
Fed. Proc. 29, 329 (1970)
- (14) BROWDIE, D. and SMITH, H.:  
Stroma-free hemoglobin: Simplified preparation and in vivo  
and in vitro effects on coagulation in rabbits  
Amer. J. Surg. 129, 365 (1975)
- (15) BUNN, H. F., ESHAM, W. T. and BULL, R. W.:  
The renal handling of hemoglobin  
I. Glomerular filtration  
J. Exp. Med. 129, 909 (1969)

- (16) BUNN, H. F. and JANDL, J. H.:  
The renal handling of hemoglobin  
II. Catabolism  
J. Exp. Med. 129, 925 (1969)
- (17) BUNN, H. F., MAY, M. H., KOCHOLATY, W. F. and SHIELDS, C. E.:  
Hemoglobin function in stored blood  
J. Clin. Invest. 48, 311 (1969)
- (18) BURCK, H. C., EICHNER, G. und SEDLACZEK, T.:  
Das akute Nierenversagen nach Hämoglobin-Infusion mit und ohne Erythrozytenstromata am Kaninchen  
Res. Exp. Med. 166, 79 (1975)
- (19) BUSSE, E. F. G., ZEKULIN, A. und GURD, F. N.:  
Erythrocyte dysfunction in shock and severe illness: A study of the hemoglobin oxygen-carrying capacity as a contributing factor in refractory hypoxia  
Canad. J. Surg. 14, 392 (1971)
- (20) BÜTLER, R.:  
Prophylaxe der posttransfusionellen Hepatitis  
Schweiz. Med. Wschr. 105, 785 (1975)
- (21) CAREY, J. S., SCHARSCHMIDT, B.F., CULLIFORD, A. T., GREEN-LEE, J. E. and SCOTT, C. R.:  
Hemodynamic effectiveness of colloid and electrolyte solutions for replacement of simulated operative blood loss  
Surg. Gynec. Obstet. 131, 679 (1970)
- (22) CHANCE, B. and WILLIAMS, G. R.:  
A simple and rapid assay of oxidative phosphorylation  
Nature 175, 1120 (1955)
- (23) CHANUTIN, A. and CURNISH, R. R.:  
Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes  
Arch. Biochem. 121, 96 (1967)

- (24) CHERNOFF, A. J.:  
Immunologic studies of hemoglobins:  
I. Production of antihemoglobin sera and their immunologic characteristics  
Blood 8, 399 (1953)
- (25) CHIACONE, E., VECCHINI, P., FORLANI, L., ANTONINI, E. and WYMAN, J.:  
Dissociation of hemoglobin from different animal species into subunits  
Biochim. Biophys. Acta 127, 549 (1966)
- (26) COCHIN, A., DAS GUPTA, T. K., DE WOSKIN, R. and MOSS, G. S.:  
Immunogenic properties of stroma vs stromafree hemoglobin  
Surg. Forum XXIII, 19 (1972)
- (27) COKELET, G. R. and MEISELMAN, H. J.:  
Rheological comparsion of hemoglobin solutions and erythrocyte suspensions  
Science 162, 275 (1968)
- (28) CREUTZFELDT, W., SEVERIDT, H. J., SCHMITT, H., GALLASCH, E., ARNDT, H. J., BRACHMANN, H., SCHMIDT, G. und TSCHAEPE, U.:  
Untersuchungen über die Häufigkeit und Verlauf der ikterischen und anikterischen Transfusionshepatitis  
Dtsch. Med. Wschr. 91, 1813 (1966)
- (29) DARLING, R. D. and ROUGHON, F. J. W.:  
The effect of methemoglobin on the equilibrium between oxygen and hemoglobin  
Amer. J. Physiol. 137, 56 (1942)
- (30) DAWSON, T. J. and EVANS, J. V.:  
Effect of anaemia on oxygen transport in sheep with different hemoglobin types  
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 45, 437 (1967)

- (31) DUHM, J. and GERLACH, E.:  
On the mechanisms of the hypoxia-induced increase of 2,3-Diphosphoglycerate in erythrocytes:  
Studies on rat erythrocytes in vivo and on human erythrocytes in vitro  
Pflügers Arch. 326, 254 (1971)
- (32) DUHM, J.:  
2,3-Diphosphoglycerate metabolism of erythrocytes and oxygen transport function of blood  
In: Gerlach, E., Moser, K., Deutsch, E., Wilmanns, W. (eds.): Erythrocytes, Thrombocytes, Leucocytes; Recent Advances in Membrane and Metabolic Research.  
G. Thieme: Stuttgart, p. 149 (1973)
- (33) DUVERLLEROY, M. A., BUCKLES, R. G., ROSENKAIMER, S., TUNG, C. and LAVER, M. B.:  
An oxyhemoglobin dissociation analyzer  
J. Appl. Physiol. 28, 227 (1970)
- (34) ELIA, C., STERNBERG, H. J., GREENBURG, A. G. and PESKIN, G. W.:  
Stroma-free hemoglobin solution in the resuscitation of the hemorrhagic shock  
Surg. Forum XXV, 201 (1974)
- (35) ENDRICH, B., JESCH, F., PETERS, W. und MESSMER, K.:  
Reanimation nach akutem Blutverlust mit stromafreier Hämoglobinlösung  
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1976, 53
- (36) FISHMAN, A. P.:  
Pulmonary Edema  
The water-exchanging function of the lung  
Circulation XLVI, 390 (1972)
- (37) FÖRSTER, H. und HOSS, J.:  
Stoffwechseluntersuchungen bei Verwendung stromafreier Hämoglobinlösungen als Sauerstoffträger  
Infusionstherapie 1, 455 (1973/74)

- (38) GAISFORD, W. D., PANDEY, N. and JENSEN, C. G.:  
Pulmonary changes in treated hemorrhagic shock:  
II. Ringer's lactate solution versus colloid infusion  
Amer. J. Surg. 124, 738 (1972)
- (39) GOODMAN, M. and CAMPBELL, D. H.:  
Differences in antigenic specificity of human normal adult,  
fetal and sickle cell anemia hemoglobin  
Blood 8, 422 (1953)
- (40) GRANT, J.:  
Complications of blood transfusion  
Practitioner 195, 179 (1965)
- (41) GREENBURG, A. G., PEARL, J., BELSHA, A. and PESKIN, G. W.:  
An improved stroma-free hemoglobin solution  
Surg. Forum XXVI, 53 (1975)
- (42) GREENFIELD, L. J., REIF, M. E., COALSON, J. J., MC CURDY, J.  
R. and ELKINS, R. C.:  
Comparative effects of interstitial pulmonary edema produced  
by venous hypertension or hemodilution in perfused lungs  
Surgery 71, 857 (1972)
- (43) GRUBER, U. F.:  
Blutersatz  
(Springer, Berlin - Heidelberg - New York, 1968)
- (44) GRUBER, U. F. and RITTMANN, W. W.:  
Treatment of blood volume deficit in shock  
Ann. Chir. Gyn. Fenn. 60, 187 (1971)
- (45) GRUBER, U. F. and RITTMANN, W. W.:  
Der hypovolämische Schock:  
Therapie des Volumenmangels und der respiratorischen Insuf-  
fizienz  
Triangel 13, 91 (1974)
- (46) GUMP, F. E., BUTLER, H. and KINNEY, J. M.:  
Oxygen transport and consumption during acute hemodilution  
Ann. Surg. 168, 54 (1968)

- (47) HAMILTON, P. B., FARR, L. E., HILLER, A. and VAN SLYKE, D. D.:  
Preparation of hemoglobin solution for intravenous infusion  
J. Exp. Med. 86, 455 (1947)
- (48) HAMILTON, P. B., HILLER, A. and VAN SLYKE, D. D.:  
The renal effects of hemoglobin infusions in dogs in hemorrhagic shock  
J. Exp. Med. 86, 477 (1947)
- (49) HINGERLE, M.:  
Orientierende Untersuchungen über Entwicklung, Immunglobulin-  
klasse und Auslösemechanismus der präformierten natürlichen  
Antikörper bei Mensch und höheren Säugetieren  
München, Med. Diss. 1974
- (50) HOLDEFER, W. F. and DOWLING, E. A.:  
Heterologous stroma-free hemoglobin as a whole blood substitute:  
Experimental use  
Surg. Forum XXIV, 18 (1973)
- (51) ILIFF, L. D., GREENE, R. E. and HUGHES, J. M. B.:  
Effect of interstitial edema on distribution of ventilation  
and perfusion in isolated lung  
J. Appl. Physiol. 33, 462 (1972)
- (52) JAENIKE, J. R. and SCHNEEBERGER, E. E.:  
The renal lesion associated with hemoglobinemia:  
II. Its structural characteristics in the rat  
J. Exp. Med. 123, 537 (1966)
- (53) JESCH, F., WEBBER, L. M., DALTON, J. W. and CAREY, J. S.:  
Oxygen dissociation after transfusion of blood in ACD or  
CPD solution  
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 70, 35 (1975)
- (54) JESCH, F., ENDRICH, B. and MESSMER, K.:  
Oxygen transport and hemodynamics of stroma-free hemoglobin  
solutions  
Adv. Exp. Med. Biol. (1976) in press

- (55) JESCH, F., ENDRICH, B., PFEIFFER, R. and MESSMER, K.:  
Resuscitation from acute blood loss with use of stromafree  
hemoglobin solution  
Europ. Surg. Res. 8, Suppl. 2, 168 (1976)
- (56) JESCH, F. und MESSMER, K.:  
Der hämorrhagische Schock - theoretische Grundlagen  
Notfallmedizin 2, 302 (1976)
- (57) JESCH, F.:  
Unveröffentlichte Ergebnisse
- (58) KAPLAN, H. R. and MURTHY, V. S.:  
Hemoglobin solution: A potential plasma volume expander  
Fed. Proc. 34, 1461 (1975)
- (59) KELLY, D. T., KROVETZ, L. J. and ROWE, R. D.:  
Double lumen flotation catheter for use in complex congeni-  
tal cardiac anomalies  
Circulation XLIV, 910 (1971)
- (60) KESSLER, M., GRUNEWALD, W.:  
Possibilities of measuring oxygen pressure fields in tissue  
by multiwire platinum electrodes  
Prog. Resp. Res. 3, 147 (1969)
- (61) KESSLER, M.:  
Oxygen supply to tissue in normoxia and in oxygen deficiency  
Microvasc. Res. 8, 283 (1974)
- (62) KESSLER, M., HÖPER, J., SCHÄFER, D. und STARLINGER, H.:  
Sauerstofftransport im Gewebe  
In: Ahnefeld, F. W., Burri, C., Dick, W., Halmágyi, M.:  
Mikrozirkulation  
Klinische Anästhesiologie und Intensivtherapie  
Band 5, S. 36  
(Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1974)

- (63) KESSLER, M. and MESSMER, K.:  
Tissue oxygenation during hemodilution  
In: Meßmer, K. and Schmid-Schönbein, H. (eds.):  
Intentional Hemodilution  
Bibl. Haematolog. 41, 16 (Karger, Basel 1975)
- (64) KLÖVEKORN, W. P.:  
Die Bedeutung des Intravasalvolumens bei extremer Hämodilution  
München, Med. Diss. 1971
- (65) KOLESNIKOV, I. S., BALLJUSEK, F.V., SHANIN, J. N., KOSTUCHENKO, A. L. and MALAKHOV, S. F.:  
An experience with the use of the hemoglobin-containing preparation Erigem as a blood substitutor  
Vestn. Khir. 108, 5, 95 (1972)
- (66) KUNZE, K.:  
Die lokale kontinuierliche Sauerstoffdruckmessung in der menschlichen Muskulatur  
Pflügers Arch. Ges. Physiol. 292, 151 (1966)
- (67) KUNZE, K.:  
Significance of oxygen pressure field measurements in human muscle with special remarks on PO<sub>2</sub> microneedle electrodes  
Prog. Resp. Res. 3, 153 (1969)
- (68) LATHEM, W. and WORLEY, W.E.:  
The distribution of extracorpuscular hemoglobin in circulating plasma  
J. Clin. Invest. 38, 474 (1959)
- (69) LATHEM, W.:  
The renal excretion of hemoglobin regulatory mechanisms and the differential excretion of free and protein-bound hemoglobin  
J. Clin. Invest. 38, 652 (1959)

- (70) LOWENSTEIN, E., COOPER, J.D., ERDMAN, A. J. III, GEFFIN, G.,  
LAVER, M. B. and YOSHIKAWA, H.:  
Lung and heart water accumulation associated with hemodilution  
In: Meßmer, K. and Schmid-Schönbein, H. (eds.):  
Intentional Hemodilution  
Bibl. Haematolog. 41, 190 (Karger, Basel 1975)
- (71) LUNGSGAARD-HANSEN, P. und PAPPOVA, E.:  
Respiratorische Insuffizienz, kolloidosmotischer Druck und  
Albumintherapie  
Infusionstherapie 1, 624 (1973/74)
- (72) MC CONN, R. and DERRICK, J. B.:  
The respiratory function of blood: Transfusion and storage  
Anesthesiology 36, 119 (1972)
- (73) MESSMER, K., BRENDL, W., HOLPER, K. und SUNDER-PLASSMANN, L.:  
Extreme Blutverdünnung durch Volumensubstitution  
Anaesthesiologie und Wiederbelebung 30, 55 (1969)
- (74) MESSMER, K.:  
Die Grundlagen der modernen Schocktherapie  
Münch. Med. Wschr. 112, 357 (1970)
- (75) MESSMER, K., LEWIS, D. H., SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN,  
W. P., MENDLER, N., HOLPER, K.:  
Acute normovolemic hemodilution:  
Changes of central hemodynamics and microcirculatory flow  
in skeletal muscle  
Europ. Surg. Res. 4, 55 (1972)
- (76) MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W. P. and  
HOLPER, K.:  
Circulatory significance of hemodilution:  
Rheological changes and limitations  
Adv. Microcirc. 4, 1 (1972)

- (77) MESSMER, K., GÖRNANDT, L., SINAGOWITZ, E., SUNDER-PLASSMANN, L., JESCH, F. and KESSLER, M.:  
Local oxygen tension in tissue of different organs during limited normovolemic hemodilution  
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972, Part II.  
Bibl. Anat. 12, 327 (Karger, Basel 1973)
- (78) MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L., JESCH, F., GÖRNANDT, L., SINAGOWITZ, E. and KESSLER, M.:  
Oxygen supply to the tissues during limited normovolemic hemodilution  
Res. Exp. Med. 159, 152 (1973)
- (79) MESSMER, K.:  
Pathophysiologische Aspekte klinischer Schockzustände  
Therapeutische Berichte 46, 109 (1974)
- (80) MESSMER, K. and GRUBER, U. F.:  
Use of colloids in the therapie of shock  
In: Malinin, T. I., Zeppa, R., Drucker, W. R., Callahan, A.B. (eds.): Acute Fluid Replacement In The Therapie Of Shock  
p. 195  
(Stratton Intercontinental Medical Book Corporation, New York 1974)
- (81) MESSMER, K. and SUNDER-PLASSMANN, L.:  
Hemodilution  
Progr. Surg. 13, 208 (Karger, Basel 1974)
- (82) MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L. und KESSLER, M.:  
Beeinflussung der Mikrozirkulation durch Hämodilution  
In: Ahnefeld, F. W., Burri, C., Dick, D., Halmágyi, M.: Mikrozirkulation  
Klinische Anästhesiologie und Intensivtherapie  
Band 5, S. 127  
(Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1974)
- (83) MESSMER, K.:  
Hemodilution  
Surg. Clin. North Amer. 55, 627 (1975)

- (84) MESSMER, K. und SUNDER-PLASSMANN, L.:  
Schock: In: Th. O. Lindenschmidt (Hrsg.)  
Pathophysiologische Grundlagen der Chirurgie, S. 159  
Thieme, Stuttgart 1975
- (85) MESSMER, K. and SUNDER-PLASSMANN, L.:  
Microcirculatory and rheologic changes in shock  
Current Topics in Critical Care Medicine  
3rd Int. Symp. Rio de Janeiro 1974  
pp. 16 (Karger, Basel 1976)
- (86) MILLER, J. H. and MC DONALD, R. K.:  
The effect of hemoglobin on renal function in the human  
J. Clin. Invest. 30, 1033 (1951)
- (87) MILLER, L. D., OSKI, F. A., DIACO, J. F., SUGARMAN, H. J.,  
GOTTLIEB, A. J., DAVIDSON, D. and DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M.:  
The affinity of hemoglobin: Its control and in vivo significance  
Surgery 68, 187 (1970)
- (88) MONKE, J. V. and YUILE, C. L.:  
The renal clearance of hemoglobin in the dog  
J. Exp. Med. 72, 149 (1940)
- (89) MOORE, F. D.:  
Transcapillary refill, the unrepaired anemia, and clinical  
hemodilution  
Surg. Gynec. Obstet. 139, 245 (1974)
- (90) MOSS, G.:  
Fluid distribution after dilutional hemoexpansion  
Surg. Forum XIX, 19 (1968)
- (91) MOSS, G. S., DE WOSKIN, R. and COCHIN, A.:  
Stroma-free hemoglobin.  
I. Preparation and observation on in vitro changes in coagulation  
Surgery 74, 198 (1973)

- (92) MOSS, G. S., DE WOSKIN, R., ROSEN, A. L., LEVINE, H. and PALANI, C. K.:  
Transport of oxygen and carbon dioxide by hemoglobin-saline solution in the red cell-free primate  
Surg. Gynec. Obstet. 142, 357 (1976)
- (93) MULDER, A. G., AMBERSON, W.R., STEGGERDA, F. R. and FLEXNER, J.:  
Oxygen consumption with Hemoglobin-Ringer  
J. Cell. Compar. Physiol. 5, 383 (1934)
- (94) MURRAY, R. K., CONNELL, G. E. and PERT, J. H.:  
The role of haptoglobin in the clearance and distribution of extracorpuscular hemoglobin  
Blood 17, 45 (1961)
- (95) MURRAY, J. F., ESCOBAR, E. and RAPOPORT, E.:  
Effects of blood viscosity on hemodynamic responses in acute normovolemic anemia  
Amer. J. Physiol. 216, 638 (1969)
- (96) Nat. Acad. Sci., Nat. Res. Counc.:  
Criteria of satisfactory plasma volume expanders  
Washington, D. C. 1963
- (97) OSKI, F.:  
The role of red cell 2,3-DPG and oxygen delivery to tissues  
In: Jepson, J. H. and Frankl, W. S. (eds.):  
Hematological Complications in Cardiac Practice; p. 77  
W. B. Saunders Company Ltd.  
London, Philadelphia, Toronto 1975
- (98) OSTROW, J. D., JANDL, J. H. and SCHMID, R.:  
The formation of bilirubin from hemoglobin in vivo  
J. Clin. Invest. 41, 1628 (1962)
- (99) PALANI, C. K., DE WOSKIN, R., MICHUDA, M., ROSEN, A. L. and MOSS, G. S.:  
In vivo oxygen transport with stroma-free hemoglobin solution in primates  
Surg. Forum XXV, 199 (1974)

- (100) PALANI, C. K., DE WOSKIN, R. and MOSS, G. S.:  
Scope and limitations of stroma-free hemoglobin solution  
as an oxygen-carrying blood substitute  
Surg. Clin. North Amer. 55, 3 (1975)
- (101) PESKIN, G. W., O'BRIEN, K. and RABINER, S. F.:  
Stroma-free hemoglobin solution: The "ideal" blood substitute?  
Surgery 66, 185 (1969)
- (102) QUICK, A. J., GEORGATSOS, J. S. and HUSSEY, C. V.:  
The clotting activity of human erythrocytes:  
Theoretical and clinical implications  
Amer. J. Med. Sci. 228, 207 (1954)
- (103) RABINER, S. F. and ROSENFELD, S.:  
Role of intravascular hemolysis and the reticulo-endothelial  
system in the production of hypercoagulable state  
J. Lab. Clin. Med. 62, 1005 (1963)
- (104) RABINER, S. F., HELBERT, J. R., LOPAS, H., FRIEDMAN, L. H.:  
Evaluation of stroma-free hemoglobin solution for the use  
as a plasma expander  
J. Exp. Med. 126, 1127 (1967)
- (105) RABINER, S. F., FRIEDMAN, L. H.:  
The role of intravascular hemolysis and the reticuloendo-  
thelial system in the production of hypercoagulable state  
Brit. J. Haematol. 14, 105 (1968)
- (106) RABINER, S. F., O'BRIEN, K., PESKIN, G. W., FRIEDMAN, L.H.:  
Further studies with stroma-free hemoglobin solution  
Ann. Surg. 171, 615 (1970)
- (107) RABINER, S. F.:  
Hemoglobin solution as a plasma expander  
Fed. Proc. 34, 1454 (1975)
- (108) RACE, D., DEDICHEN, H. and SCHENK, W. G. jr.:  
Regional blood flow during dextran-induced normovolemic  
hemodilution in the dog  
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 53, 578 (1967)

- (109) RELIHAN, M. and LITWIN, M. S.:  
Effects of stroma-free hemoglobin solution on clearance rate  
and renal function  
Surgery 71, 395 (1972)
- (110) RELIHAN, M., OLSEN, R. E., LITWIN, M. S.:  
Clearance rate and effect on renal function of stroma-free  
hemoglobin following renal ischemia  
Ann. Surg. 176, 700 (1972)
- (111) RELIHAN, M. and LITWIN, M. S.:  
Clearance rate and renal effects of stroma-free hemoglobin  
on acidotic dogs  
Surg. Gynec. Obstet. 137, 73 (1973)
- (112) REPILOGE, R. L. and MERRILL, E. W.:  
Experimental polycythemia and hemodilution - physiologic  
and rheologic effects  
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 60, 582 (1970)
- (113) REPLOGE, R.:  
Hemodynamic compensation of acute changes of the hemoglobin  
concentration  
In: Meßmer, K. and Schmid-Schönbein, H.:  
Hemodilution. Theoretical basis and clinical application,  
p. 160 (Karger, Basel 1972)
- (114) RING, J., SEIFERT, J., LOB, G., COULIN, K. und BRENDDEL, W.:  
Humanalbuminunverträglichkeit: Klinische und immunologische  
Untersuchungen  
Klin. Wschr. 52, 595 (1974)
- (115) RING, J., SEIFERT, J., MESSMER, K. und BRENDDEL, W.:  
Untersuchungen zur Frage der Nebenwirkungen bei Anwendung  
von Plasmaersatzmitteln  
Klin. Anaesth. u. Intensivther. 9, 58 (1975)
- (116) ROWE, H. J. and ARANGO, A.:  
The choice of intravenous fluid in shock resuscitation  
Pediatric Clin. North Amer. 22, 269 (1975)

- (117) RUDOWSKI, W., SCHIER, J., DASZYŃSKI, J. and KOSTRZEWSKA, E.:  
Administration of stroma-free hemoglobin solution  
Haematologia 6, 409 (1972)
- (118) SAID, S. J., LONGACHER, J. W. jr., DAVIS, R. K., BANERJEE, C. M., DAVIS, W. M. and WOODDELL, W. J.:  
Pulmonary gas exchange during induction of pulmonary edema in anesthetized dogs  
J. Appl. Physiol. 19, 403 (1964)
- (119) SASAZUKI, T.:  
Immunochemical and physicochemical properties of haptoglobin, antihemoglobin antibody, and their complexes with hemoglobin  
Immunochemistry 8, 695 (1971)
- (120) SCHIER, J., JASTRZEBSKI, J., RUDOWSKI, W., DASZYŃSKI, J. and KOSTRZEWSKA, E.:  
Effect of stroma-free hemoglobin solution on respiration and blood oxygenation  
Haematologia 7, 339 (1973)
- (121) SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:  
Blood rheology and the distribution of blood flow within the nutrient capillaries  
In: Meßmer, K. and Schmid-Schönbein, H. (eds.):  
Intentional Hemodilution  
Bibl. Haematolog. 41, 1 (Karger, Basel 1975)
- (122) SCHNEIDER, M.:  
Zur Pathophysiologie des Schocks  
In: Horatz, K. und Frey, R.: Schock und Plasmaexpander  
Springer, Berlin - Göttingen - Heidelberg 1964
- (123) SCHNEIDER, W. und KOESTER, H. J.:  
Zur Beurteilung von Transfusionsreaktionen.  
Konsequenzen für die Praxis  
Münch. Med. Wschr. 108, 1478 (1966)

- (124) SCHÖNLEBEN, K., KRUMME, B. A., BÜNTE, H. und KESSLER, M.:  
Kontrolle der Intensivbehandlung durch Messung von Mikro-  
zirkulation und O<sub>2</sub>-Versorgung  
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1976, 72
- (125) SEIFERT, J., JESCH, F., KLÖVEKORN, W. P. und MESSMER, K.:  
Die Blutvolumenbestimmung beim Hund im hämorrhagischen  
Schock  
Res. Exp. Med. 157, 269 (1972)
- (126) SEIFERT, J., MESSMER, K.:  
Factors influencing the <sup>51</sup>Cr-labelling of erythrocytes  
Europ. Surg. Res. 2, 321 (1970)
- (127) SEIFERT, J., SUNDER-PLESSMANN, L., KLÖVEKORN, W. P. and  
MESSMER, K.:  
Blood volume in dogs hemodiluted with dextran, gelatine  
or stroma-free hemoglobin solution  
Intern. Res. Commun. System 1, 11-16-2 (1973)
- (128) SHINOWARA, G. Y.:  
Thromboplastic cell component of human blood  
Fed. Proc. 15, 354 (1956)
- (129) SIEGLE, M.:  
Verhalten der Blutviskosität bei experimenteller Hämodilu-  
tion, Hämokonzentration und im hämorrhagischen Schock  
München, Med. Diss. 1973
- (130) SIEVERS, S. und JAEGER, J.:  
Blut und Blutersatz in der Gynäkologie und Geburtshilfe:  
Indikationen, Vor- und Nachteile  
Fortschr. Med. 88, 129 (1970)
- (131) SIGGAARD-ANDERSEN, O., ENGEL, K.:  
A new acid-base nomogram  
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 177 (1960)

- (132) SINAGOWITZ, E., RAHMER, H., RINK, R., GÖRNANDT, L., KESSLER, M.:  
Local oxygen supply in intraabdominal organs and skeletal muscle during hemorrhagic shock  
In: Bicher, H. J., Bruley, D. H.: Oxygen Transport To Tissue  
Adv. Exp. Med. Biol. 37A, 505 (1973)
- (133) SINAGOWITZ, E., RAHMER, H., RINK, H. und KESSLER, M.:  
Die Sauerstoffversorgung von Leber, Pankreas, Duodenum, Niere und Muskel während des hämorrhagischen Schocks  
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1976, 301
- (134) STANGER, P., HEYMAN, M. A., HOFFMANN, J. E. and RUDOLPH, A. M.:  
Use of the Swan-Ganz Catheter in cardiac catheterization of infants and children  
Amer. Heart J. 83, 749 (1972)
- (135) SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W. P., HOLPER, K., HASE, U. and MESSMER, K.:  
The physiological significance of acutely induced hemodilution  
In: Ditzel, J. and Lewis, D. H. (eds.)  
6th Europ. Conf. Microcirculation, Aalborg 1970 p. 23  
(Karger, Basel 1971)
- (136) SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W. P. and MESSMER, K.:  
Hemodynamics and rheologic changes induced by hemodilution with colloids  
In: Meßmer, K. and Schmid-Schönbein, H.:  
Hemodilution. Theoretical basis and clinical application, p. 184 (Karger, Basel 1972)
- (137) SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W.P., LEWIS, D. H. und MESSMER, K.:  
Die Wirksamkeit kolloidaler Infusionslösungen auf die Dynamik der normalen und gestörten Mikrozirkulation  
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1972, 411

- (138) SUNDER-PLASSMANN, L., JESCH, F., KLÖVEKORN, W.P. and MESSMER, K.:  
Limited hemodilution in hemorrhagic shock in dogs: Effects on central hemodynamics and the microcirculation in skeletal muscle  
Res. Exp. Med. 159, 167 (1973)
- (139) SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W. P., MESSMER, K. und BRENDDEL, W.:  
Veränderungen der Hämodynamik und Fließeigenschaften des Blutes bei Anwendung künstlicher Kolloide  
In: Ahnefeld, F. W., Burri, C. und Halmágyi, M.:  
Akute Volumen- und Substitutionstherapie mit Blut, Blutbestandteilen und Elektrolyten; S. 139  
J. F. Lehmanns Verlag, München 1973
- (140) SUNDER-PLASSMANN, L., DIETERLE, R., SINAGOWITZ, E., KESSLER, M. and MESSMER, K.:  
Stroma-free hemoglobin solution as blood replacement fluid: Effects on regional tissue PO<sub>2</sub> of different organs  
Europ. Surg. Res. 5, Suppl. 1, 83 (1973)
- (141) SUNDER-PLASSMANN, L., JESCH, F., SEIFERT, J., GROHMANN, W. und MESSMER, K.:  
The hemodynamic and hemorheological effects of stroma-free hemoglobin solution  
In: Ditzel, J. and Lewis, D. H. (eds.):  
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972, Part I, Methodology in Microcirculation  
Bibl. Anat. 11, 104 (Karger, Basel 1972)
- (142) SUNDER-PLASSMANN, L., PFEIFFER, R., JESCH, F. und MESSMER, K.:  
Sauerstofftransport und Hämodynamik nach Blutersatz durch stromafreie Hämoglobinlösung  
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1973, 329

- (143) SUNDER-PLOSSMANN, L., SINAGOWITZ, E., DIETERLE, R.,  
RINK, R., KLÖVEKORN, W. P., KESSLER, M., SEIFERT, J. and  
MESSMER, K.:  
Blood replacement with stroma-free hemoglobin solution  
Europ. Surg. Res. 5, Suppl. 2, 46 (1973)
- (144) SUNDER-PLOSSMANN, L., SINAGOWITZ, E., RINK, R., DIETERLE,  
R., MESSMER, K. and KESSLER, M.:  
The local oxygen supply in tissue of abdominal viscera and  
of skeletal muscle in extreme hemodilution with stroma-  
free hemoglobin solution  
In: Bicher, H. J., Bruley, D. F.: Oxygen Transport To  
Tissue  
Adv. Exp. Med. Biol. 37A, 395 (1973)
- (145) SUNDER-PLOSSMANN, L., MESSMER, K.:  
Funktionelle Veränderungen der Mikrozirkulation im Schock  
In: Ahnefeld, F. W., Burri, C., Dick, W., Halmágyi, M.:  
Mikrozirkulation  
Klinische Anästhesiologie und Intensivtherapie Band 5, S. 76  
(Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1974)
- (146) SUNDER-PLOSSMANN, L., DIETERLE, R., SEIFERT, J., JESCH, F.  
and MESSMER, K.:  
Stromafree hemoglobin solution as a blood replacement  
fluid. Actual state and problems  
Europ. J. Intensive Care Medicine 1, 37 (1975)
- (147) SWAN, H. J. C. and GANZ, W.:  
Use of ballon flotation catheters in critically patients  
Surg. Clin. North Amer. 55, 501 (1975)
- (148) SZABÓ, G., MAGYAR, S. and KOCSÁR, L.:  
Passage of hemoglobin into urine and lymph  
Acta Medica Hung. XXI, 349 (1965)
- (149) TAKAORI, M. and SAFAR, P.:  
Acute, severe hemodilution with lactated Ringer's solution  
Arch. Surg. 94, 67 (1967)

- (150) UNSELD, H.:  
Einfluß einer stromafreien Hämoglobinlösung auf den Kreis-  
lauf und die Nierenfunktion im hämorrhagischen Schock  
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1972, 403
- (151) UNSELD, J. M.:  
Blutersatz durch stromafreie Hämoglobinlösung  
Anaesthesiologie und Wiederbelebung, 85, (1974)
- (152) UNSELD, H., BEZGER, F. und SCHORER, R.:  
Vor- und Nachteile der stromafreien Hämoglobinlösung beim  
hämorrhagischen Schock:  
Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen im Vergleich  
mit Albumin und Bluttransfusion  
Anaesthesiologie und Wiederbelebung, 94, 256 (1975)
- (153) USAMI, S., CHIEN, S. and GREGERSEN, M. I.:  
Hemoglobin solution as a plasma expander:  
Effects on blood viscosity  
Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 136, 1232 (1971)
- (154) USZYŃSKI, L., SCHIER, J., RUDOWSKI, W., DASZYŃSKI, J.:  
Effects of stroma-free hemoglobin solution on the blood  
clotting system in dogs  
Europ. Surg. Res. 8, 204 (1976)
- (155) VAN DER STOCK, J. and DE SCHEPPER, J.:  
The urinary excretion of bilirubin after increased plasma  
hemoglobin concentration in dogs  
Experientia 25, 814 (1969)
- (156) ZANDER, R. and SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:  
Oxygen release of human erythrocytes during flow  
In: Ditzel, J. and Lewis, D. H. (eds.):  
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972, Part I,  
Methodology in Microcirculation  
Bibl. Anat. 11, 111 (Karger, Basel 1972)



Herrn Prof. Dr. W. Brendel bin ich für die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes am Institut für chirurgische Forschung zu großem Dank verpflichtet.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Meßmer, der den Verlauf der Versuche und ihre Auswertung mit stets wertvoller Kritik und Anregung unterstützte.

Bei Herrn Dr. F. Jesch bedanke ich mich sehr herzlich für die geduldige Einführung in das experimentelle Arbeiten und die zahlreichen Hinweise zum Fortgang dieser Arbeit.

Herrn Priv. Doz. Dr. J. Seifert und Herrn Dr. J. Ring danke ich für ihre Bereitschaft zur Diskussion und die Unterstützung im Verlauf der Arbeit.

Für die histologischen Untersuchungen und Befunde bedanke ich mich bei Herrn Priv. Doz. Dr. K. Pielsticker.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen, Fräulein R. Pfeiffer, Fräulein K. Reiter und Fräulein R. Meisel, danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und die Anfertigung der Abbildungen.



## LEBENS LAUF

Am 15. August 1949 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Robert Endrich und seiner Ehefrau Dorothea, geb. Brieskorn, in München geboren.

Ab Herbst 1955 besuchte ich die Volksschule in München.

1959 trat ich auf das humanistische Ludwigsgymnasium in München über, an welchem ich 1969 das Abitur ablegte.

Mein Medizinstudium begann ich im Wintersemester 1969/70 an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, wo ich nach dem Wintersemester 1971 das Vorphysikum und nach dem Sommersemester 1973 das Physikum bestand.

Während des klinischen Studiums, - ebenfalls an der Universität München -, erfolgten Famulaturen im Krankenhaus Neuwittelsbach in Nymphenburg, im Kreiskrankenhaus Fürstenfeldbruck und in der pathologischen Abteilung des Kreiskrankenhauses München-Pasing.

Seit August 1975 bin ich mit meiner Frau Rosemarie Endrich, geb. Waadt, verheiratet.

Das Staatsexamen legte ich nach dem Sommersemester 1976 ab.









